



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

EMÍLIA ROSIANE KOTOVSKI TOZO BISINOTO

ESTUDOS FILOGENÉTICOS E MORFOANATÔMICOS DA
TRIBO PLUMERIEAE E. MEY. (RAUVOLFIOIDEAE,
APOCYNACEAE)

FILOGENETIC AND MORPHO-ANATOMICAL STUDIES
OF THE TRIBE PLUMERIEAE E. MEY.
(RAUVOLFIOIDEAE, APOCYNACEAE)

CAMPINAS

2018

EMÍLIA ROSIANE KOTOVSKI TOZO BISINOTO

**ESTUDOS FILOGENÉTICOS E MORFOANATÔMICOS
DA TRIBO PLUMERIEAE E. MEY. (RAUVOLFIOIDEAE,
APOCYNACEAE)**

**FILOGENETIC AND MORPHO-ANATOMICAL STUDIES
OF THE TRIBE PLUMERIEAE E. MEY.
(RAUVOLFIOIDEAE, APOCYNACEAE)**

*Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual de
Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de
Doutora em Biologia Vegetal*

*Thesis presented to the Biology
Institute of the University of Campinas
in partial fulfillment of the
requirements for the degree of Doctor
in Plant Biology*

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA
ALUNA EMÍLIA ROSIANE KOTOVSKI TOZO
BISINOTO E ORIENTADA PELO ANDRÉ OLMOS
SIMÕES.

Orientador: ANDRÉ OLMOS SIMÕES

CAMPINAS

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 140527/2015-0; CAPES

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

B541e Bisinoto, Emília Rosiane Kotovski Tozo, 1980-
Estudos filogenéticos e morfoanatômicos da tribo Plumerieae E. Mey.
(Rauvolfioideae, Apocynaceae) / Emília Rosiane Kotovski Tozo Bisinoto. –
Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: André Olmos Simões.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de
Biologia.

1. Filogenia - Aspectos moleculares. 2. Flores - Morfologia. 3. Flores -
Anatomia. 4. Rauvolfioideae. 5. Apocináceas. I. Simões, André Olmos, 1975-
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Phylogenetic and morpho-anatomical studies of the tribe
Plumerieae E. Mey. (Rauvolfioideae, Apocynaceae)

Palavras-chave em inglês:

Phylogeny - Molecular aspects

Flowers - Morphology

Flowers Anatomy

Rauvolfioideae

Apocynaceae

Área de concentração: Biologia Vegetal

Titulação: Doutora em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

André Olmos Simões [Orientador]

Diego Demarco

Gustavo Hiroaki Shimizu

Letícia Silva Souto

Maria Carolina Scatolin do Rio

Data de defesa: 28-08-2018

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal

Campinas, 28 de agosto de 2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. André Olmos Simões

Prof. Dr. Diego Demarco

Dr. Gustavo Hiroaki Shimizu

Profa. Dra. Letícia Silva Souto

Dra. Maria Carolina Scatolin do Rio

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

“...nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. André Olmos Simões, meu mais profundo agradecimento pela grande ajuda, não só na pesquisa, mas na vida pessoal, ao longo de todos estes anos, dando apoio sempre que precisei. Agradeço por sua paciência, amizade, disponibilidade, confiança, e pela oportunidade de tê-lo como meu orientador desde o meu mestrado.

À CAPES e ao CNPq pela bolsa de doutorado e taxa de bancada concedidas.

À secretária Maria Roseli de Melo, meu total agradecimento e respeito por toda a ajuda e esclarecimentos prestados.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal, e principalmente ao Laboratório de Taxonomia (Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp), onde recebi toda a infraestrutura para a realização desta tese.

Ao laboratório de Análise Genética e Molecular (CBMEG-Unicamp) e ao de Biologia Molecular de Plantas (CBMEG-Unicamp).

À Práticia Zambon e ao Dr. Márcio José da Silva do CBMEG pela dedicação dada e por sempre estarem dispostos a ajudar, fazendo o melhor.

Aos membros da banca de qualificação, pré-banca e banca de defesa (titulares e suplentes) Prof. Dr. Diego Demarco, Profa. Dra. Ingrid Koch, Profa. Dra. Letícia Silva Souto, Profa. Dra. Maria do Carmo Estanislau do Amaral, Dra. Maria Carolina Scatolin do Rio, Dra. Sueli Maria Gomes e ao Dr. Gustavo Hiroaki Shimizu. Agradeço a todos, pois independente da fase que estiveram envolvidos no meu trabalho de doutorado, sempre contribuíram substancialmente para melhoria desta tese.

À Dra. Mary E. Endress da Universidade de Zurique (Suíça) por disponibilizar seu laminário de estruturas florais de espécies de Rauvolfioideae, além de ceder fotos de Plumerieae que foram inseridas nesta tese. E, acima de tudo por compartilhar seu amplo conhecimento sobre a família Apocynaceae.

Ao Dr. Leonardo Alvarado-Cárdenas da Universidade Estadual Autônoma do México (México), pela prestatividade, gentileza em ajudar, e por compartilhar seu conhecimento em Plumerieae sempre que eu precisei.

Ao Dr. Juan Francisco Morales da Universidade de Bayreuth (Alemanha) pela disponibilização de fotos do seu acervo. Por estar sempre pronto a ajudar e por partilhar seu conhecimento sobre a família Apocynaceae.

Aos queridos amigos, Ana Alencar, Elimar Alves de Lima, Elisabeth E. Tölke, Fabio Cassola, e colegas do laboratório de Anatomia Vegetal, por serem sempre tão prestativos e carinhosos comigo.

Ao Edimar F. M. Lopes pela amizade e por me ajudar em todos os momentos que precisei.

Principal agradecimento à Bárbara B. Biazotti e Carolina C. M. Freitas, pela amizade construída desde o meu mestrado, dando-me muita ajuda não só em questões cotidianas de laboratório, mas pela presença constante na vida fora do laboratório.

Aos amigos e colegas do laboratório de Taxonomia, Gustavo H. Shimizu, Natali Bordon, Andreza Pereira, Suzana Costa, Ana Carolina Castello, que me auxiliaram nas atividades de laboratório molecular e me ajudaram nas atividades extralaboratoriais.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Vegetal, principalmente João Carlos Galvão, pela prestatividade e ajuda durante esses anos.

Ao meu marido Leonardo Tozo Bisinoto, por estar ao meu lado em cada sucesso obtido, cada degrau avançado e, também, pelo amor, cuidado, carinho e compreensão. Obrigada por estar sempre ao meu lado, participando desta longa caminhada, e ajudando-me a construir pilares mais sólidos, estabelecendo uma vida mais estável, segura, de cumplicidade e respeito.

Enfim, meu muito obrigada a todas as pessoas que me ajudaram, direta ou indiretamente, a completar mais este período da minha vida.

RESUMO

Apocynaceae é uma das maiores e mais complexas famílias de angiospermas, que passou por várias mudanças em sua circunscrição ao longo de sua história taxonômica. Atualmente, está subdividida em dois grados: rauvolfioide Kostel e apocynoide Burnett, e três subfamílias: Periplocoideae R. Br. ex Endl., Secamonoideae Endl. e Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett. Rauvolfioide contém as primeiras linhagens em ordem de divergência, formando um grado com o restante da família. A ampla variedade no tipo de frutos e sementes neste grado, foram importantes nas delimitações de suas tribos no passado, porém mais recentemente vários destes caracteres foram identificados como homoplásticos. Rauvolfioide possui, atualmente, 11 tribos e 79 gêneros, sendo Plumerieae a mais derivada junto com Carisseae. Plumerieae é a tribo mais distinta do grado rauvolfioide por apresentar grande variação em suas estruturas florais, passando pela maior mudança em sua circunscrição dentro do grado. A tribo compreende 10 gêneros e 53 espécies, organizados em três subtribos: *Plumeriinae*, *Allamandinae* e *Thevetiinae*. Os conflitos nas classificações desta tribo no passado não ficaram apenas na separação entres os gêneros em distintas tribos, mas também na delimitação, relação e circunscrição dos seus gêneros. Pela taxonomia e história complicadas a presente tese avaliou a circunscrição e as relações entre os gêneros, utilizando caracteres morfológicos florais e moleculares, contribuindo para a sistemática de Plumerieae, na forma de dois capítulos: (1) Sistemática filogenética da tribo Plumerieae (grado rauvolfioide, Apocynaceae) e (2) Estudos de caracteres morfoanatômicos florais em Plumerieae (grado rauvolfioide, Apocynaceae).

Filogeneticamente, baseados em dados moleculares plastidiais e nucleares, foi verificada a proximidade de Hunterieae com Plumerieae, sendo Plumerieae confirmada como monofilética e grupo-irmão de Carisseae. Dois grandes clados principais são observados em Plumerieae: clado I, formado pelas subtribos *Plumeriinae* e *Allamandinae*, e clado II, formado pela subtribo *Thevetiinae*. Foram definidas também as relações dos gêneros *Allamanda*, *Anechites*, *Mortoniella* e *Skytanthus* com os demais gêneros na tribo. Todos os gêneros aqui analisados são monofiléticos, com alto valor de sustentação, assim como forte sustentação para os demais clados formados na tribo. O estudo morfoanatômico de estruturas florais mostrou que as características florais de Plumerieae são muito informativas, com uma enorme variedade morfológica e anatômica, apresentando ampla variação na distribuição dos idioblastos secretores e da morfologia e anatomia dos coléteres calicinais, corona, anteras, ovário e cabeça do estilete, que propiciou tanto estabelecer relações entre gêneros e espécies, quanto delimitá-las, esclarecendo e corroborando a classificação vigente da tribo.

ABSTRACT

Apocynaceae is one of the largest and most complex families of angiosperms, which underwent several changes in its circumscription throughout its taxonomic history. It is currently subdivided into two grades: rauvolfioid Kostel and apocynoid Burnett, and tree subfamilies: Periplocoideae R. Br. ex Endl., Secamonoideae Endl. and Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett. Rauvolfioid contains the first lineages in order of divergence, forming a grade with the rest of the family. The wide variety in the fruits and seeds type in this grade were important in the delimitations of their tribes in the past, but more recently identified as homoplastic. Rauvolfioid currently has 11 tribes and 79 genera, being Plumerieae the most derived along with Carisseae. Plumerieae is the most distinct tribe of rauvolfioid grade because it presents great variation in its floral structures, passing through the greatest change in its circumscription within the grade. The tribe comprises 10 genera and 53 species, organized into three subtribes: *Plumeriinae*, *Allamandinae* and *Thevetiinae*. Conflicts in the classifications of this tribe in the past were not only in the separation between the genera in different tribes, but also in the delimitation, relation and circumscription of their genera. The present thesis evaluated the circumscription and relations between the genera, using floral and molecular morphological characters, contributing to Plumerieae systematics, in the form of two chapters: (1) Phylogenetic systematics of the tribe Plumerieae E. Mey. (rauvalfioid grade, Apocynaceae) and (2) Studies of floral morphoanatomical characters in Plumerieae E. Mey. (rauvalfioid grade, Apocynaceae). Phylogenetically, based on plastid and nuclear molecular data, the proximity of Hunterieae with Plumerieae was verified, with Plumerieae being confirmed as monophyletic and sister group of Carisseae. Two major clades are observed in Plumerieae: clade I formed by the subtribes *Plumeriinae* and *Allamandinae*, and clade II formed by the subtribe *Thevetiinae*. The relationships of the genera *Allamanda*, *Mortoniella*, *Anechites* and *Skytanthus* with the other genera in the tribe were also defined. All the genera here analyzed are monophyletic, with high support value, as well as strong support for the other clades formed in the tribe. The morphoanatomic study of floral structures showed that the floral characteristics of Plumerieae are very informative, with a huge morphological and anatomical variety. Its with wide variation in the distribution of secretory idioblasts and the morphology and anatomy of the calycine colleters, corona, anthers, ovary and stylar head, which allowed both to establish relations between genera, species, and to delimit them, clarifying and corroborating the current classification of the tribe.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
Tratamento taxonômico.....	17
Apocynaceae Juss.....	17
Grado rauvolfioide Kostel.	17
Tribo Plumerieae E. Mey.....	18
Caracterização geral dos gêneros de Plumerieae	19
JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
 Capítulo 1: Sistemática filogenética da tribo Plumerieae E. Mey. (GRADO RAUVOLFIOIDE, APOCYNACEAE).	
RESUMO	32
ABSTRACT	33
INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
RESULTADOS	47
Análise das matrizes individuais e concatenadas	47
Análise de Inferência Bayesiana (IB)	48
Análise de Máxima Parcimônia (MP)	49
DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÃO.....	56
FIGURAS	58

FIGURAS SUPLEMENTARES	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
APÊNDICE	65
Capítulo 2: Estudos de caracteres morfoanatômicos florais em Plumerieae E. Mey (GRADO RAUVOLFIOIDE, APOCYNACEAE).	
RESUMO	79
ABSTRACT	80
INTRODUÇÃO.....	81
MATERIAL E MÉTODOS.....	86
RESULTADOS	87
DISCUSSÃO	97
CONCLUSÃO.....	110
FIGURAS	111
CLADOGRAMAS	119
CONSIDERAÇÕES FINAIS	132
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	134
APÊNDICES	142
ANEXOS	149
Anexo 1: Declaração referente a bioética e/ou biossegurança	149
Anexo 2: Declaração referente a direitos autorais.....	150

INTRODUÇÃO GERAL

Apocynaceae Juss. está taxonomicamente posicionada junto às famílias Loganiaceae, Gentianaceae, Gelsemiaceae e Rubiaceae, na ordem Gentianales (APG IV 2016), sendo considerada uma das 10-12 maiores e mais complexas famílias de angiospermas (Ollerton *et al.* 2018). Apocynaceae contém 25 tribos, 50 subtribos, 366 gêneros e cerca de 5350 espécies (Endress *et al.* 2014, Endress *et al.* In press.). A família apresenta ampla distribuição, tendo seus representantes dispersos em todos os principais biomas de todos os continentes, exceto em tundra ártica, com irradiação, no passado, dos trópicos para as regiões subtropicais e temperadas, sendo particularmente rica em espécies nos trópicos secos e úmidos (Endress *et al.* 2000, Rapini *et al.* 2002, Rapini 2004, Juárez-Jaimes *et al.* 2007, Ollerton *et al.* 2018). No Brasil, Apocynaceae é bem representada nos diferentes biomas, com cerca de 754 espécies pertencentes a 77 gêneros que compõem os grados rauvolfioide, apocynoide e a subfamília Asclepiadoideae, encontradas em todos os biomas brasileiros (Flora do Brasil 2020).

O desconhecimento das relações filogenéticas entre suas linhagens, no passado, explica a artificialidade das classificações utilizadas por muito tempo no meio científico e serão tratadas a seguir.

Historicamente, nas primeiras classificações botânicas do século XVII, todas as plantas produtoras de secreção leitosa eram agrupadas sob o nome de Apocynum, e neste contexto, abrangiam táxons totalmente diferentes que, atualmente, estão circunscritos em famílias tão díspares como Apocynaceae e Euphorbiaceae.

Posteriormente, a família Apocynaceae foi estabelecida por Adanson (1768) sob o nome de Apocyna, a qual englobava os táxons de todos os representantes de Apocynaceae até então conhecidos. Adanson (1768) dividiu a família em duas seções: plantas com ovário sincárpico e plantas com ovário apocárpico, sendo o primeiro autor a organizar a família. Em seguida, Jussieu (1789) na sua obra *Genera plantarum*, modificou o termo “Apocyna” para “Apocineae”, mantendo a circunscrição proposta por Adanson (1768), sendo instituído, desde então, o autor da família, pois a obra de Jussieu (1789) foi considerada o ponto de partida para os nomes supragenéricos (Art. 13.1a do Código de Shenzhen (2018)). Brown (1810), por sua vez, separou as Apocynaceae em duas famílias distintas: **Apocineae** (atuais grados rauvolfioide e apocynoide) e **Asclepiadeae** (atuais Asclepiadoideae, Periplocoideae e Secamonoideae), com base, principalmente, na ausência ou presença de polinário, respectivamente. Ele descreveu mais de 40 gêneros na

família, muitos dos quais ainda hoje são válidos, principalmente em Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae.

No histórico taxonômico a seguir serão tratadas **apenas** as circunscrições relacionadas aos atuais grados rauvolfioide e apocynoide (**Apocyneae** sensu Brown, 1810), pois a delimitação de Brown (1810) permaneceu por muito tempo nas classificações subsequentes. Como o ponto central da presente tese está relacionado à tribo do grado rauvolfioide, optamos por apenas apresentar a história de Apocynaceae no seu conceito mais estrito até Endress & Bruyns (2000).

O nome Apocynaceae foi empregado pela primeira vez por **Lindley** (1836), que manteve tanto a circunscrição de Brown (1810) quanto Jussieu (1789) como autor para a família. Lindley (1836) separou a família em três grupos: Echitea, Carissea e Rauvolfia, com base em características de seus frutos e sementes. O primeiro grupo englobava gêneros com folículos separados e sementes glabras; o segundo grupo era formado pelos gêneros com frutos foliculares e sementes comosas; e por fim, o terceiro grupo unia gêneros com frutos do tipo baga ou drupa.

De Candolle (1844), divergindo das partições propostas até então para a família, propôs uma nova classificação. Este autor utilizou novamente os caracteres de frutos e sementes, como Lindley (1836), mas baseou-se também em caracteres florais para estabelecer a sua nova proposta de circunscrição para Apocynaceae, particularmente em espécies cujas flores possuíam ginostégio (fusão pós-gênita entre determinada região do estame e a cabeça do estilete (porção dilatada do ápice do estilete)), para separar em distintas tribos. Em sua circunscrição foram estabelecidas sete tribos: Willughbeieae, Carissieae, Plumerieae, Parsonieae, Wrightieae, Alstonieae e Echiteae. Esta nova classificação proposta por De Candolle (1844) teve grande importância no meio taxonômico e serviu de influência para muitos trabalhos desenvolvidos posteriormente.

Müller (1860), em extenso tratamento sistemático de Apocynaceae, publicado na obra *Flora Brasiliensis*, propôs uma nova distribuição dos gêneros em seis tribos: Carisseae, Ophioxileae, Plumerieae, Malouetieae, Echitiae e Allamandaeae. A proposta de Müller (1860) baseou-se principalmente na classificação de De Candolle (1844), dando ênfase ao seguinte conjunto de caracteres: tipo de inflorescência; anteras totalmente ou parcialmente férteis, com ou sem apêndices basais; pré-floração sinistrorsa ou dextrorsa; grau de sincarpia; número de lóculos do ovário; tipo de fruto; presença ou ausência de coma na semente.

Benth (1876), seguindo os princípios de De Candolle (1844), propôs duas subfamílias, Plumerioideae e Echitoideae, reduzindo para três as tribos: Carisseae e Plumerieae (Plumerioideae) e Echiteae (Echitoideae), com base nos caracteres utilizados por De Candolle (1844). Dois anos mais tarde, **Gray** (1878) reduziu as duas subfamílias de Benth (1876) à categoria de tribos: Plumerieae, caracterizada pelas anteras livres, totalmente férteis e não aderidas à clavícula (=cabeça do estilete), e Echitideae, com anteras coniventes, parcialmente férteis e aderidas à clavícula.

Schumann (1895) elevou novamente estas duas tribos de Gray (1878) à categoria de subfamília, como proposto por Benth (1876); Plumerioideae, com três tribos (Arduineae, Pleiocarpeae e Plumereae), subdivididas com base na morfologia do ovário e do fruto; e Echitoideae, com duas tribos (Echitideae e Parsonsieae), subdivididas com base na posição dos estames em relação à corola. O trabalho de Schumann (1895) serviu de referência para a proposta de classificação de outros autores como Woodson (1930) e Pichon (1948a, b, 1949, 1950).

Woodson (1930), além de aceitar a classificação de Schumann (1895), estabeleceu mais uma subfamília, Apocynoideae. Esta subfamília era composta de diversos gêneros de Echitoideae oriundos das floras norte-americana, africana e asiática. Sua classificação se baseava principalmente nos caracteres dos apêndices glandulares (coléteres calicinais), corola, presença ou ausência de ginostégio, estames, pólen, ovário, e hábito.

Pichon (1948a, b, 1949, 1950), além de considerar as duas subfamílias de Schumann (1895), elevou a subtribo Cerberineae à categoria de subfamília, Cerberoideae, com base na deiscência latrorsa das anteras e morfologia da cabeça do estilete. Esta subfamília abrangia gêneros anteriormente pertencentes à Plumerioideae, como *Cerbera* e *Thevetia*. As tribos de Plumerioideae e Cerberoideae também foram circunscritas pelos caracteres de antera, mas mantendo a inclusão de características dos frutos. Já as tribos de Echitoideae foram circunscritas pelo padrão de adnação dos estames com a cabeça do estilete.

Allorge (1976) considerou cinco subfamílias para Apocynaceae: Plumerioideae, Tabernaemontanoideae, Echitoideae, Apocynoideae e Cerberoideae, com base em estruturas florais. Um dos pontos mais marcantes neste trabalho foi a autora transferir a tribo Allamandae para a subfamília Echitoideae pela suposta presença de retináculo, que formaria o ginostégio. Contudo, **Fallen** (1985) sugeriu que Allamandae voltasse para

Plumerioideae, por evidências anatômicas da ausência de um retináculo e adnação entre elementos do androceu e gineceu.

Leeuwenberg (1994) reconheceu apenas Plumerioideae e Apocynoideae (= Echitoideae sensu Pichon (1948 a, b, 1949, 1950)) como subfamílias de Apocynaceae, separando-as em 12 tribos. Este autor seguiu as ideias de Pichon (1948a, b, 1949, 1950), mas apenas parcialmente, pois não anulam as delimitações dos gêneros. Deste modo, as subfamílias foram separadas com base em dois caracteres marcantes, a pré-floração para a direita ou para esquerda dos lobos da corola (dextrorsa e sinistrorsa, respectivamente) e ausência ou presença de ginostégio. Para caracterizar as tribos usou como critério a arquitetura vegetativa, caracteres florais, mas também dando grande peso em caracteres de fruto e sementes.

Ao mesmo tempo em que eram propostas as classificações internas de Apocynaceae, outros estudos estavam direcionados em demonstrar que a separação de Brown (1810) em duas famílias estava equivocada (ex. Hallier 1905, Demeter 1922, Safwat 1962, Stebbins 1974, Stevens 1976, Thorne 1976, 1992, Judd *et al.* 1994, Struwe *et al.* 1994, Endress & Alberts 1995, Sennblad & Bremer 1996, Sennblad 1997, Civeyrel *et al.* 1998, Sennblad *et al.* 1998 e Potgieter 1999).

As mudanças mais significativas em nosso conceito de família foram geradas pelos primeiros estudos filogenéticos no final da década de 1990 e início de 2000, baseados no uso da metodologia cladística, que visavam o reconhecimento de grupos monofiléticos nas classificações. Por exemplo, em APG (1998), Apocynaceae aparecia como grupo parafilético sem a inserção dos demais representantes de Asclepiadaceae sensu Brown (1810). Percebendo que Apocynaceae necessitaria se unir a Asclepiadaceae para formar um grupo monofilético, a maioria dos especialistas do grupo uniram os seus esforços para provar tal ideia (ex. Sennblad & Bremer 1996, Sennblad *et al.* 1998, Goyder 1999, Endress & Bruyns 2000, Endress & Stevens 2001 e Endress 2003).

Assim, permaneceu por 190 anos a delimitação de Brown (1810) para a família, porém como citado acima, esta separação em Apocynaceae e Asclepiadaceae foi questionada por vários autores. Desta forma, os trabalhos, auxiliados pelo grande aumento de espécies amostradas em estudos filogenéticos, assim como dados morfológicos mais detalhados, crescente uso de dados moleculares e pelas análises filogenéticas, legitimaram a reunificação destas duas famílias (Apocynaceae e Asclepiadaceae) em uma só (Apocynaceae Juss.), promovendo também várias mudanças na classificação e agrupamento infrafamiliar (Endress & Bruyns 2000).

A família Apocynaceae esteve dividida em cinco subfamílias (Endress & Bruyns 2000, Endress *et al.* 2007 e 2014): Rauvolfioideae Kostel., Apocynoideae Burnett, Periplocoideae R. Br. ex Endl., Secamonoideae Endl. e Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett (Potgieter & Alberts 2001, Sennblad & Bremer 2002, Livshultz *et al.* 2007, Simões *et al.* 2007, 2010, Endress *et al.* 2014). Mas os dados mais recentes de classificação das subfamílias de Apocynaceae mostram que apenas Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae são monofiléticas, enquanto Rauvolfioideae e Apocynoideae são parafiléticas, formando grados: grado rauvolfioide e grado apocynoides, Simões *et al.* 2016, Fishbein *et al.* 2018).

Tabela 1: Categorias infrafamiliares de Apocynaceae, considerando apenas Rauvolfioideae e Apocynoideae, por alguns autores ao longo da história taxonômica.

Autores	Categorias infrafamiliares
Lindley (1836)	Echitea, Carissea e Rauvolfia
De Candolle (1844)	Willughbeae, Carissieae, Plumerieae, Parsonieae, Wrightieae, Alstonieae e Echiteae
Müller (1860)	Carisseae, Ophioxileae, Plumerieae, Malouetieae, Echitiae e Allamandae
Bentham (1876)	Plumerioideae e Echitoideae
Gray (1878)	Plumerieae e Echiteae
Schumann (1895)	Plumerioideae e Echitoideae
Woodson (1930)	Apocynoideae Plumerioideae e Echitoideae
Pichon (1948-1950)	Plumerioideae Echitoideae e Cerberoideae
Allorge (1975)	Plumerioideae Tabernaemontanoideae Echitoideae Apocynoideae e Cerberoideae
Leeuwenberg (1994)	Plumerioideae e Echitoideae
Endress & Bruyns (2000)	Rauvolfioideae (=Plumerioideae sensu Schumann) e Apocynoideae (=Echitoideae sensu Pinchon)
Simões <i>et al.</i> (2016)	grado rauvolfioide e grado apocynoides

Tratamento taxonômico

Apocynaceae Juss., Gen. Pl. 143 (1789).

As Apocynaceae são lianas, ervas perenes com raízes fibrosas e tuberosas, caudiciformes, epífitas, suculentas, arbustos ou árvores, com espécies verdadeiramente aquáticas conspicuamente ausentes. O látex é geralmente leitoso, às vezes translúcido, raramente amarelo ou vermelho. As folhas são simples e inteiras, normalmente pecioladas, raramente sésseis, geralmente opostas, raramente alternas ou verticiladas. Com estípulas ausentes ou pequenas e caducas, quase sempre com coléteres na axila foliar, às vezes no pecíolo, base da lâmina ou ao longo da nervura principal e raramente com domácias abaxialmente nas nervuras axilares. As flores são perfeitas, raramente funcionalmente dioicas, actinomórficas, raro levemente zigomórficas, gamopétalas, quase sempre 5-meras, exceto gineceu que apresenta dois carpelos (raramente 3 ou 5). O cálice é gamossépalo, na maior parte com coléteres na base da região adaxial das lacínias. A corola é hipocrateriforme, infundibuliforme, tubular ou rotácea, constituindo pétalas contorcidas no botão ou valvares, dextrorsas ou sinistrorsas, com ou sem corona corolina e ginostegial. Os estames são epipétalos e inseridos no tubo da corola. As anteras são, na maior parte, altamente elaboradas, com guias laterais lignificadas, adnatas ou não à cabeça do estile, e neste caso formando ginostégio. O pólen está organizado em mônades, tétrades ou polínias, fracamente coesivas ou firmemente ligadas ao polinário, com cobertura externa cerosa (ectexina). Nectários podem estar ausentes ou presentes no tubo estaminal, formando um anel na base do ovário, em lobos alternos aos carpelos ou fusionados à parede do ovário. O ovário é apocárpico ou sincárpico, súpero ou semi-ínfero, com placentação marginal, parietal ou axilar; a parte superior dos carpelos é fusionada pós-genitamente formando uma cabeça de estilete, geralmente com anel basal que retém o pólen e/ou anel apical. O fruto é principalmente um par de folículos ventralmente deiscentes (frequentemente um aborta), ou bagas, drupas e mais raramente cápsulas ou sâmaras, com sementes pequenas, nuas, aladas, ariladas ou comosas, e neste caso com a coma na região da micrópila, raramente calazal (Endress & Bruyns 2000, Fishbein *et al.* 2018).

Grado rauvolfioide Kostel., Allg. Med.-Pharm. Fl. 3: 1054 (1834)

O grado rauvolfioide, possui atualmente 11 tribos e 79 gêneros, formando um grado com o restante de Apocynaceae (Endress *et al.* 2014, Simões *et al.* 2007 e 2016). As espécies constituintes do grado rauvolfioide são árvores, arbustos, lianas e mais

raramente ervas, com látex geralmente leitoso, raramente avermelhado ou amarelado. As folhas são alternas ou verticiladas. Os coléteres calicinais são frequentemente ausentes, mas quando presentes constituem-se de uma única série (multisseriados em *Tabernaemontaneae*). A corola é geralmente hipocrateriforme, raramente campanulada, tubular ou infundibuliforme; lobos geralmente eretos a suberetos em botão (inflexos em *Tabernaemontaneae* e *Alyxieae*), com pré-floração geralmente sinistrorsa; corona, quando presente, quase sempre do tipo corolina, geralmente formada por lobos ou bolsas simples em seios da pétala (raramente fusionados), às vezes mais abaixo no tubo da corola, mas sempre acima dos estames. As anteras são geralmente inclusas no tubo da corola, raro exsertas, totalmente férteis (férteis apenas na parte superior e com apêndices basais lignificados e estéreis na maioria das *Tabernaemontaneae*) e livres da cabeça do estilete. Nectário em torno da base do ovário, adnato à parede externa do ovário ou ausente. O ovário é apocárpico, congenitamente sincárpico ou muito raramente pós-genitamente sincárpico; cabeça do estilete inteiramente receptiva ou com região estigmática restrito à base. Os frutos são do tipo folículo, baga, drupa, cápsula ou samaroide; deiscentes ou indeiscentes; com pericarpo carnoso ou seco e endocarpo às vezes lignificado, formando uma estrutura pétrea ao redor da(s) semente(s). As sementes são geralmente nuas ou aladas; tênues, glabras ou com tricomas; lisas, sulcadas ou rugosas, sem coma (exceto *Haplophyton*) e apresentando endosperma liso, às vezes sulcado ou ruminado, raro reduzido ou ausente. O pólen é na maior parte 3-4-colporado, mas em *Alyxieae* e em alguns representantes de *Melodineae* o pólen é tipicamente porado e frequentemente com somente 2 aberturas (Endress & Bruyns 2000).

Evidências recentes sugerem que caracteres usualmente utilizados para circunscrever as tribos do grado *rauvolfioide*, como diferenciação da cabeça dos estiletos, fusão do ovário, deiscências de frutos, forma da margem da semente são homoplásticos, tendo surgido paralelamente em diferentes grupos desta subfamília e que, quando utilizadas isoladamente ou com maior peso, podem delimitar grupos não monofiléticos (Endress & Bruyns 2000, Potgieter & Alberts 2001, Simões *et al.* 2007).

Tribo Plumerieae E. Mey., Comm. Pl. Afr. Austr. 2: 188 (1838). Tipo: *Plumeria* L.

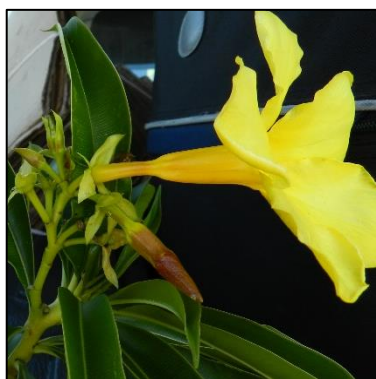
A tribo *Plumerieae*, na revisão de Endress & Bruyns (2000), foi a que teve maior mudança em sua circunscrição dentro do grado *rauvolfioide*, com a inclusão de gêneros das tradicionais *Cerberae*, *Allamandae* e *Plumeriinae* e exclusão de inúmeros gêneros que passaram a fazer parte de outras tribos. A monofilia da tribo (*sensu* Endress & Bruyns

2000) foi observada em diversos estudos, assim como um posicionamento derivado no grado rauvolfioide e próximo à Carisseae (Potgieter & Albert 2001, Sennblad & Bremer 2002, Endress *et al.* 2007, Simões *et al.* 2007 e Fishbein *et al.* 2018). Atualmente contém 10 gêneros, subdivididos em três subtribos: Allamandinae (*Allamanda* L.), Plumeriinae (*Himatanthus* Willd. ex Schult., *Mortoniella* Woodson, *Plumeria* L.) e Thevetiinae (*Anechites* Griseb., *Cameraria* L., *Cerbera* L., *Cerberiopsis* Viell. ex Pancher & Sébert, *Skytanthus* Meyen e *Thevetia* L.) (Endress *et al.* 2007 e 2014), com distribuição pantropical. São árvores ou arbustos, com látex leitoso. Folhas geralmente alternas, às vezes opostas (verticiladas em *Allamanda*). Flores grandes, vistosas. Coléteres calicinais ausentes ou presentes. Corola geralmente maior que 2 cm de comprimento, muitas vezes espessa e de aparência cerosa, hipocrateriforme ou infundibuliforme; corona corolina presente na base dos lóbulos das pétalas e por trás dos estames e apêndices infra-estaminais geralmente presentes. Anteras com deiscência latrorsa ou introrsa e frequentemente com apêndices apicais filiformes, originados da expansão do conectivo; pólen 3-colporado. Disco nectarífero ausente ou presente. Ovário apocárpico ou sincárpico somente na base (pós-genitamente sincárpico em *Allamanda*); súpero ou semi-ínfero. Fruto folicular, capsular, drupoide ou samaroide, com pericarpo carnoso ou seco; placentas muitas vezes lignificadas nos frutos. Sementes 1-4 (-muitas) por carpelo, nuas ou aladas (Endress & Bruyns 2000).

Caracterização geral dos gêneros de Plumerieae E. Mey.

***Allamanda* L., Mant. Pl. 2: 146 (1771). Tipo: *Allamanda cathartica* L.**

O gênero *Allamanda* é representado por 15 espécies, sendo nativo do Continente Americano, desde o México até a Argentina, especialmente distribuído pela costa



Allamanda laevis Markgr.
Foto: Emília R. Kotovski

brasileira. Sinônimos: *Allemanda* L., e *Orelia* Aubl. (1775) (tropicos.org. e plantillustration.org). Árvores, arbustos e subarbustos, mais raramente lianas, látex leitoso ou translúcido; folhas verticiladas, opostas próximas a inflorescência, glabras ou pubescentes. Inflorescência terminal ou axilar, variando de cimosa a dicasial ou bostricoide (mais frequente); cálice gamossépalo, lacínias com coléteres internamente, raro ausentes; corola infundibuliforme, de coloração amarela, amarelo-

alaranjada ou violácea, pré-floração sinistrorsa; estames inclusos, anteras com deiscência

introrsa; nectário anelar; ovário sincárpico e unilocular, com sutura externa visível entre os dois carpelos e placentação parietal; cabeça do estilete em forma de carretel, constituído de anel apical, anel basal, estrutura secretora entre estes anéis, e dois apêndices apicais livres. Fruto capsular, seco, globoso ou compresso, ornamentado de estruturas em forma de espinhos ou liso; sementes geralmente aladas (Fallen 1985, Sakane & Shepherd 1986).

***Anechites* Griseb., Fl. Brit. W. Indian Isl. 410 (1861).**

O gênero monotípico, representado pela espécie *Anechites nerium* (Aubl.) Urb., é distribuído desde as Antilhas, Nicarágua até Colômbia e Equador. Sinônimo: *Apocynum nerium* Aubl. Hist.Pl. Guiane 1: 277, *Echites asperuginis* Sw. Prod. 52 (1788) (tropicos.org e Fallen 1983).



Anechites nerium (Aubl.) Urb.
Foto: <http://plantasdepuertorico>

Liana delicada recoberta por tricomas diminutos e curvados, látex aquoso ou escassamente leitoso; folhas opostas, com tricomas na porção adaxial. Inflorescência dicasial, 10-15-flores, com uma flor aberta por vez; cálice com uma glândula apical em cada sépala e coléteres calicinais opostos às sépalas; corola branca, hipocrateriforme, pré-floração sinistrorsa, lobos pubescentes, com densos tricomas acima dos estames; anteras subsséseis, basifixas, deiscência latrorsa, apêndice apical acuminado que se torna preto quando seco; anel nectarífero livre com ápice lobado em torno do ovário, cerca de 1/4 do tamanho do ovário; ovário súpero, apocárpico, com 2-6 óvulos bisseriados; cabeça do estilete com curto anel membranoso na base e dois apêndices apicais longos com células epidérmicas papilosas. Mericarpos 2, onde apenas um desenvolve-se, indeiscentes, com tricomas curvados; semente 1, nua, oblonga e compressa (Fallen 1983).

***Cameraria* L., Sp. Pl. 1: 210 (1753). Tipo: *Cameraria latifolia* L.**

O gênero *Cameraria* possui três espécies: *Cameraria angustifolia* L.; *Cameraria latifolia* L. e *Cameraria linearifolia* Urb. & Ekman que podem ser encontradas no SE do México, Guatemala, Belize e Antilhas (Morales 2009).



Cameraria latifolia L.
Foto: E. P. Mallore

Arbustos com látex leitoso; folhas opostas, subcoriáceas a coriáceas, glabras ou glabrescentes, sem coléteres. Inflorescência cimosas, terminal, pauciflora, bracteada; cálice com 5 sépalas iguais, pequenas e mais ou menos triangulares, glabras ou glabrescentes, sem coléteres na base; corola hipocrateriforme, branca ou creme, sem corona, externamente glabra, com 5 lobos de pré-floração sinistrorsa; estames inclusos, inseridos na parte

superior do tubo, anteras com deiscência latrorsa, ápice acuminado e prolongado em um apêndice filiforme, com filete curto; nectário ausente; gineceu bicarpelar, apocárpico, com até 4 óvulos por carpelo, cabeça do estilete com base em forma de cúpula, sem anel basal. Frutos samaroides, com uma asa larga e desigual, glabros a glabrescentes; sementes 1 (-2), nuas (Morales 2009).

***Cerbera* L., Sp. Pl. 208 (1753). Tipo: *Cerbera manghas* L.**

O gênero *Cerbera* conta com 6 espécies e pode ser encontrado no Continente Africano (Pemba, Tanzânia e Madagáscar), Ásia (Ilha de Okinawa, no Japão) e Oceania (Ilha Pitcairn e Austrália). Sinônimos: *Odollam* Adanson, Farn. Pl. 2: 171 (1763). *Odollamia* Rafin., Sylva Tellur. 162 (1838). *Elcana* Blanco, Fl. Filip. ed 2: 584 (1845). *Tanghinia* Thou., Gen. Nov. Madag. 10 (1806) (Lippold 1980, theplantlist.org, tropicos.org. e plantillustration.org).



Cerbera manghas Gartn.
Foto: Mary E. Endress

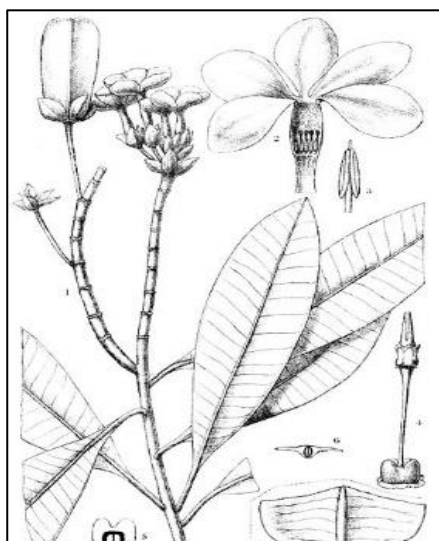
Árvores ou arbustos, com látex branco abundante em todas as partes vegetativas, ramos glabros; folhas alternas espiraladas, pecioladas; lâminas estreitamente obovadas ou elípticas, acuminadas no ápice. Inflorescência terminal, vistosa, bracteada, pedunculada, com pedicelos geralmente curtos; flores perfumadas, abertas durante o dia na maioria das espécies, durante a noite em *C. floribunda*; sépalas principalmente verde-pálido, livres ou quase

imbricadas, iguais ou desiguais, sem coléteres calicinais; corola hipocrateriforme, branca, rosa ou menos frequentemente amarela, laranja ou vermelha na fauce, pubescente; anteras sésseis ou quase, subglobosas e lateralmente compressas, elípticas ou ovaladas,

geralmente cordadas, deiscência latrorsa. Gineceu com ápice ao nível das anteras, glabro; ovário subgloboso, frequentemente comprimido lateralmente, com dois carpelos apocárpicos, contendo apenas 2 óvulos por carpelo; cabeça de estilete, com parte basal geralmente apresentando 5 projeções longitudinais, anel apical conspícuo. Fruto drupoide, frequentemente vermelho, vermelho-arroxeadado ou azul quando maduro, geralmente 2 (ou 1 por aborto), elipsoide ou subgloboso, com mesocarpo fibroso; sementes 1-2 em cada mericarpo, planas (Lippold 1980 e Leeuwenberg 1999).

***Cerberiopsis* Vieill. ex Pancher & Sebert ex Pancher, Not. Bois. Nouv. Caledonie 187 (1874).**

O gênero *Cerberiopsis* (nome que significa "similar a *Cerbera*") contém três espécies: *Cerberiopsis candelabra* Vieill. ex-Pancher & Sebert, *Cerberiopsis neriifolia* (S.Moore) Boiteau e *Cerberiopsis obtusifolia* (Van Heurck & Müll.Arg.) Boiteau, todas distribuídas pela Nova Caledônia. Sinônimo: *Pterochrosia* Baillon (1889) (theplantlist.org, tropicos.org. e plantillustration.org).



C. neriifolia (S.Moore) Boiteau
Imagem: <http://plantgenera.org>

Árvores ou arbustos, látex branco abundante, ramos glabros; folhas alternas, pecioladas, estreitamente obovadas ou elípticas. Inflorescência terminal, maior que as folhas subtendidas, pedunculadas, com pedicelos geralmente curtos, bracteada; flores perfumadas; cálice com sépalas esverdeadas, que não fecham a base da corola, iguais ou desiguais, sem coléteres na base; corola hipocrateriforme, branca, pubescente, corona presente, pré-floração sinistrorsa; estames epipétalos, anteras sésseis ou subssésseis, deiscência latrorsa, deltoides; ovário súpero, apocárpico, subgloboso, frequentemente comprimido lateralmente, contendo 4-6 óvulos, cabeça de estilete cônica, com dois apêndices apicais fusionados na base. Fruto samaróide; semente 1 em cada mericarpo, planas (Pichon 1948, Veillon 1971 e Forster 1992).

***Himatanthus* Willd. ex Roem. & Schult., Syst. Veg. 5: xii-xiv, 221 (1819).**
Tipo: *Himatanthus rigidus* Willd. ex Roem. & Schult.

O gênero *Himatanthus* possui nove espécies espalhadas pela América do Sul, com uma espécie (*H. articulatus*) que se estende ao Panamá (Woodson 1938, Spina *et al.* 2013 e tropicos.org).



H. obovatus (Müll.Arg.) Woodson
Foto: Emília R. Kotovski

Árvores ou arbustos com cerca de 30 m de altura, látex branco; folhas alternas, muitas vezes congestas no ápice dos ramos, lâminas subcoriáceas ou coriáceas e margens frequentemente revolutas. Inflorescência terminal ou pseudo-lateral, cimosa, com brácteas grandes, vistosas e com numerosas glândulas na base; cálice reduzido, com lacínias desiguais, imbricadas; corola hipocrateriforme,

branca, tubo estreito; estames inseridos na parte inferior do tubo da corola, anteras subsésseis, lanceoladas, basalmente sagitadas, com deiscência introrsa; ovário apocárpico, semi-ínfero, com numerosos óvulos; cabeça do estilete fusiforme ou cilíndrica, totalmente estigmática. Folículos 2, secos, divergentes, falciformes; sementes compressas, com ala concêntrica (Spina 2003 e Spina *et al.* 2013).

***Mortoniella* Woodson, Ann. Missouri Bot. Gard. 26:257 (1939).**

O gênero é monotípico, *Mortoniella pittieri* Woodson, que se distribui pelo NO de Costa Rica, SO da Nicarágua e Belize. Sinônimo: *Morleya leipocalyx* Woodson, Ann. Missouri Bot. Gard. 35(3): 233. (1948) (Woodson 1939, tropicos.org e theplantlist.org).



Mortoniella pittieri Woodson
Foto: Juan F. Morales

Árvores ou arbustos, látex branco, ramos glabros a pubescentes; folhas alternas, com coléteres intrapeciolares inconspícuos, glabras a pubescentes, membranáceas, margens não revolutas, pecioladas. Inflorescência em panículas glabras a pubescentes, multiflora, brácteas inconspícuas; cálice com sépalas iguais, glabras a pubescentes, sem coléteres na base; corola hipocrateriforme, branca a creme, glabra, pré-floração sinistrorsa; estames inseridos na base do

tubo da corola, anteras ovais com deiscência introrsa, filetes inconspícuos; nectário ausente; ovário apocárpico, com numerosos óvulos, cabeça do estilete sem colar basal evidente. Folículos 2, subparalelos, lenhosos, fusiformes, glabros ou pubescentes na

superfície externa; sementes numerosas, secas, nuas e aladas (Woodson 1939 e Morales 2005).

***Plumeria* L., Sp. Pl. 1:209 (1753). Tipo: *Plumeria rubra* L.**

O gênero compreende 7-8 espécies que se distribuem pelo México, Antilhas, Guianas, Venezuela, Peru e Bolívia. Sinônimos: *Plumiera* L. (1753), *Plumieria* auctt. (1777) (Woodson 1938, Morales 2005, tropicos.org e theplantlist.org).



Plumeria rubra L.

Foto: Emília R. Kotovski

Árvores ou arbustos, com látex branco, ramos glabros ou pubescentes, com cicatrizes peciolares conspicuas, coléteres intrapeciolares reduzidos; folhas alternas, glabras ou pubescentes, membranosas, pecioladas. Inflorescência em panículas terminais, com numerosas flores, glabras a brácteas pubescentes; cálice com 5 sépalas, iguais, sem coléteres na base; corola hipocrateriforme, sem

anel ou lóbulos coronais livres na superfície interior; coloração branca, creme, amarela, vermelha ou rosada, com 5 lobos de pré-floração sinistrorsa; anteras com deiscência introrsa, sem apêndices apicais; nectário ausente; ovário apocárpico, semi-ínfero, com numerosos óvulos; cabeça do estilete globosa ou claviforme, totalmente estigmática e ligeiramente bipartida, sem anel basal evidente. Folículos 2, lisos, fusiformes, subparalelos; sementes muitas, achatadas, aladas (Woodson 1938 e Morales 2005).

***Skytanthus* Meyen, Reise Erde 1:376 (1834).**

O gênero *Skytanthus* possui duas espécies: *Skytanthus acutus* Meyen, endêmica do Chile, e *Skytanthus hancorniiifolius* (A.DC.) Miers, endêmica do Brasil. Sinônimo: *Neriandra* A. DC. (1844) (Pichon 1948, tropicos.org, e theplantlist.org).



S. hancorniiifolius (A. DC.) Miers

Foto: Gustavo Hiroaki Shimizu

Arbustos, látex branco; folhas opostas ou alternas, lineares a oblongas, com pecíolo curto. Inflorescência cimosas, com flores apicais, amarelas; cálice, profundamente partido, com 5 sépalas lanceoladas, agudas, pubescentes, 5-8 mm de comprimento, sem coléteres internamente; corola hipocrateriforme, dilatada na porção dos estames, amarelo intenso, pré-floração sinistrorsa; estames

epipétalos, inseridos na porção mais distal da corola, com anteras subsésseis, apresentando extenso apêndice apical filiforme, deiscência latrorsa; ovário súpero, apocárpico, com numerosos óvulos; cabeça do estilete claviforme, com dois apêndices apicais. Folículos 2, cilíndricos, glabros, delgados, coriáceos e retorcidos; sementes compressas e estreitamente aladas (Pichon 1948 e Morales 2013).

***Thevetia* L., Opera Var. 212 (1758) nom. cons. Tipo: *Cerbera ahouai* L.**

O gênero contém 8-9 espécies distribuídas desde o México até a Argentina. Sinônimos: *Ahouai* Miller Gard. Dict. Abr. (ed. 4) (1763). *Ahovai* Boehm, Def. Gen. Pl. 36. (1760). *Cerbera* Pers., Syn. Pl. 1: 267. (1805). *Cascabela* Raf., Sylva Tell. 162. (1838). *Plumeriopsis* Rusby & Woodson, Ann. Missouri Bot. Gard. 24(1): 11. (1937) (Lippold 1980, tropicos.org eplantillustrations.org).



Thevetia ahouai (L.) A.DC.
Foto: Emília R. Kotovski

Árvores ou arbustos, com látex branco; ramos glabros a pubescentes; folhas alternas, normalmente espiraladas, sem coléteres, glabras ou pubescentes na superfície abaxial, membranáceas a subcoriáceas, margens não revolutas, sésseis a pecioladas. Inflorescências cimosas, às vezes parecendo racemosas, terminais, axilares ou subterminais, pauciflora a multiflora, glabras ou pubescentes; cálice com 5 sépalas, iguais, escariosas a subfoliáceas; corola hipocrateriforme ou infundibuliforme, amarela ou creme, geralmente glabra,

com cinco lóbulos corolinos opostos sobre as anteras, lobos em número de 5, pré-floração sinistrorsa; estames inclusos, anteras com deiscência latrorsa; nectário anelar e lobado; gineceu apocárpico, com 2-4 óvulos, cabeça do estilete com lóbulos basais e anel apical evidente. Frutos drupoides ou bacoides, com exocarpo carnoso ou esponjoso, mesocarpo lenhoso ou esponjoso; sementes 2-4, nuas (Lippold 1980 e Alvarado-Cárdenas & Ochoterena 2007).

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Um dos fatores importantes para o desenvolvimento desta tese foi a necessidade de obter dados tanto moleculares quanto morfológicos que auxiliem na delimitação dos táxons, principalmente melhorar a compreensão das relações entre eles, já que a tribo Plumerieae é a mais heterogênea devido a sua grande amplitude morfológica floral que

dificultou sua circunscrição no passado. Diante disso, a fim de contribuir tanto com os estudos filogenéticos em *Plumerieae*, quanto com os estudos morfoanatômicos florais na tribo, esta tese é composta por dois capítulos:

Capítulo 1: Sistemática filogenética da tribo *Plumerieae* E. Mey. (GRADO RAUVOLFIOIDE, APOCYNACEAE).

A partir de uma amostragem taxonômica mais abrangente, busquei reconstruir uma hipótese filogenética para a tribo a partir de dados moleculares, com o principal objetivo de responder: (1) qual é o grupo-irmão de *Plumerieae*; (2) se a tribo e seus gêneros são monofiléticos; (3) se as três subtribos propostas por Endress *et al.* (2014) têm forte sustentação; (4) quais gêneros estão mais relacionados entre si; (5) se *Mortoniella* se sustenta como um clado a parte de *Plumeria*; e (5) qual o posicionamento de *Allamanda*, *Skytanthus* e *Anechites* na tribo.

Capítulo 2: Estudos de caracteres morfoanatômicos florais em *Plumerieae* E. Mey. (GRADO RAUVOLFIOIDE, APOCYNACEAE).

A partir de análises detalhadas dos vários caracteres morfológicos e anatômicos florais de *Plumerieae*, busquei obter dados adicionais para melhor compreender as variações morfológicas e anatômicas da tribo, estabelecer tendências, buscar relações de proximidade entre seus gêneros e esclarecer as seguintes dúvidas: 1) se existe nectário não estruturado para aqueles gêneros desprovidos de anel nectarífero; 2) se os anéis nectaríferos, presente em alguns gêneros na tribo, são morfológicamente e anatomicamente iguais; 3) se existe adnação entre a cabeça do estilete e estruturas presentes na corola, como relatado na literatura; 4) se sim, esta fusão é similar e pode ser interpretada como um ginostégio?; 5) se as estruturas secretoras no ápice das lacínias do cálice são coléteres e se são similares anatomicamente aos coléteres encontrados na base das lacínias; 6) presença de lignificação das anteras na tribo e 7) se as espécies consideradas apocárpicas na literatura são de fato apocárpicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADANSON, M. 1768. Familles des plantes. (Reimp. 1966. Introdução de F.A. Stafleu.) Ed. Lehre, Paris.

ALLORGE, L. 1976. Morphologie et biologie florale des Apocynacées: Applications taxonomiques. PhD diss. École pratique des Hautes Etudes, Paris.

APG IV 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society. 181(1):1-20.

BENTHAM, G. & HOOKER, J. D. 1876. Genera Plantarum. Londini. Reeve & CO., Willians & Norgate 2: 681-728.

BROWN, R. 1810. Prodomus Flore Nove Hollandie et insule van-diemen, exhibens chacacteres Plantarum quas Annis 1802-1805. Londini. Botanical Museum of Harvard University.

CANDOLLE, A. P. DE 1844. Ordo CXXIX. Apocynaceae. - In Candolle, A. E. DE, (Ed.): Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis, 317-489. - Paris: Fortin, Masson.

CIVEYREL, L. A. THOMAS, L. E. FERGUSON, K. & CHASE, M. 1998. Critical reexamination of palynological characters used to delimit *Asclepiadaceae* in comparison to the molecular phylogeny obtained from *plastidmark* sequences. Molecular Phylogenetic 9: 517–527.

DEMETER, K. 1992. Vergleichende Asclepiadeenstudien. Flora 115: 130-176.

ENDRESS, P. K. 2003b. What should a “complete” morphological phylogenetic analysis entail? In T. F. Stuessy, E. H. Ö. randl, and V. Mayer [eds.], Deep morphology: Toward a renaissance of morphology in plant systematics. Regnum Vegetabile 141: 131-164.

ENDRESS, M. E. 2004. Apocynaceae: Brown and now. Telopea 10: 525-541.

ENDRESS, M. E. & ALBERT. V. A. 1995. A morphological cladistic study of Apocynaceae: Trends in character evolution within a broadened familial circumscription. American Journal of Botany 82: 127.

ENDRESS, M. E. & BRUYNS, P. 2000. A revised classification of Apocynaceae s.l. Botanical Review 66: 1-56.

ENDRESS, M. E. & STEVENS, W. D. 2001. The renaissance of the Apocynaceae s. l.: recent advances in systematics, phylogeny, and evolution: introduction. Annals of the Missouri Botanical Garden 88: 517-522.

- ENDRESS, M. E. LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2007.** Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 259-267.
- ENDRESS, M. E. LIEDE-SCHUMANN, S. MEVE, U. 2014.** An updated classification for Apocynaceae. *Phytotaxa* 159: 175-194.
- FALLEN, M. E. 1985.** The gynoecial development and systematic position of *Allamanda* (Apocynaceae). *American Journal of Botany* 72: 572-579.
- FISHBEIN, M. LIVSHULTZ, T. STRAUB, S. C. K. SIMÕES, A. O. BOUTTE, J. MCDONNELL, A. & FOOTE, A. 2018.** Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers and fruits. *American Journal of Botany* 105: 1-19.
- FLORA DO BRASIL 2020 under construction.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>
- FORSTER, P. I. 1992.** A taxonomic revision of *Cerbera* L. (Apocynaceae) in Australia and Papuasias. *Austrobaileya* 3: 569-579.
- GOYDER, D. 1999.** The Asclepiadaceae – a figment of our imagination? 309–317 in Timberlake, J. & Kativu, S. (eds), *African Plants: Biodiversity, Taxonomy and Uses*. (Royal Botanic Gardens: Kew).
- GRAY, A. 1878.** Synoptical Flora of North America. Vol. II - Part I. Gamopetalae after Compositae. New York: Ivison, Blakeman, Taylor, & Co.
- HALLIER, H. 1905.** Provisional scheme of the natural (phylogenetic) system of flowering plants. *New Phytology* 4: 151-162.
- JOLY, A. B. 1977.** Botânica: chaves de identificação das famílias de plantas vasculares que ocorrem no Brasil – baseadas em chaves de Franz Thonner. Ed. Nacional, São Paulo.
- JUDD, W. S. SANDERS, R. W. & DONOGHUE, M. J. 1994.** Angiosperm family pairs: preliminary phylogenetic analysis. *Harvard Papers of Botany* 5: 1-51.
- JUSSIEU, A. L. DE. 1789.** *Genera Plantarum*. Herissant, Paris.
- JAIMES, J. V., ALVARADO-CÁRDENAS, L.O., VILLASEÑOR, J.L. 2007.** La familia Apocynaceae sensu lato en México: diversidad y distribución. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78: 459–482.
- LEEUWENBERG, A. J. M. 1994.** Taxa of the Apocynaceae above the genus level. Series of revisions of Apocynaceae, XXXVIII. *Wageningen Agricola University* 94(3): 45-60.
- LINDLEY, J. 1836.** *A natural system to Botany*. 2nd edn. - London: Longman.

- LIVSHULTZ, T. MIDDLETON, D. J. ENDRESS, M. E. WILLIAMS, J. K. 2007.** Phylogeny of Apocynoideae and the APSA clade (Apocynaceae s.l.). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 324-359.
- MORALES, J. F. 2005.** Estudios en las Apocynaceae Neotropicales XIX: La familia Apocynaceae s.str. (Apocynoideae, Rauvolfioideae) de Costa Rica. *Darwiniana* 43: 90-191.
- MORALES, J. F. 2009a.** La familia Apocynaceae (Apocynoideae, Rauvolfioideae) en Guatemala. *Darwiniana* 47:140-184.
- MORALES, J. F. 2013.** Synopsis of the Apocynaceae s. str. (Apocynoideae and Rauvolfioideae) of Chile. *Darwiniana* 1: 39-45.
- MULLER-ARGOVENSIS, J. M. 1860.** Apocynaceae. In: Martius, C.P.P. (Ed.). *Flora brasiliensis*. Lipsiae: Frid. Fleisher 6, pt.1.
- OLLERTON, J. LIEDE-SCHUMANN, S. ENDRESS, M E. MEVE, U. et al. [75 authors in all] 2018.** The diversity and evolution of pollination systems in large plant clades: Apocynaceae as a case study. *Annals of Botany* 20: 1–15.
- PICHON, M. 1948a.** Classification des Apocynacées: I. Carissées et Ambelaniées. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique* 24: 111-181.
- PICHON, M. 1948b.** Classification des Apocynacées: V, Cerbéroïdes. *Notulae Systematicae, Herbarium du Muséum de Paris, Phanérogamie* 13: 212-229.
- PICHON, M. 1949.** Classification des Apocynacées: IX. Rauvolfiées, Alstoniées, Allamandées et Tabernaémontanées. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique* 24: 153-251.
- PICHON, M. 1950b.** Classification des Apocynacées: XXVIII, Supplément aux Plumérioidées. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique*, 1: 145-166.
- POTGIETER, K. 1999.** Phylogenetic study of Apocynaceae Juss. and *Aspidosperma* Mart. & Zucc. Ph.D. diss., University of Illinois at Urbana-Champaign.
- POTGIETER, K. & ALBERT, V. A. 2001.** Phylogenetic relationships within Apocynaceae s.l. based on *trnL* intron and *trnL-F* spacer sequences and propagule characters. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 523-549.
- RAPINI, A. 2000.** Asclepiadaceae ou Asclepiadoideae (Apocynaceae)? Conceitos distintos de agrupamento taxonômico. *Hoehnea* 27: 121-130.

- RAPINI, A. DE MELLO-SILVA, R. KAWASAKI, M.L. 2002.** Richness and endemism in Asclepiadoideae (Apocynaceae) from the Espinhaco Range of Minas Gerais, Brazil - a conservationist view. *Biodiversity and Conservation* 11: 1733–1746.
- RAPINI, A. 2004.** Apocynaceae (dogbane and milk-weed family). In: Smith, N. Mori, S.A. Henderson, A. Stevenson, D.W. & Head, S.V. (eds.). *Flowering plants of the Neotropics*. Princeton University Press, Princeton.
- SAKANE, M. & SHEPERD, G. J. 1987.** Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 9: 125-149.
- SAFWAT, F. M. 1962.** The floral morphology of *Secamone* and the evolution of the pollinating apparatus in Asclepiadaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* 49: 95-129.
- SCHUMANN, K. 1895.** Apocynaceae. In: Engler, A e Prantl, L. (ed) *Die naturlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig, Wilhelm Engelmann 4: 109-189.
- SENNBLAD, B. 1997.** Phylogeny of the Apocynaceae s.l. (Ph.D. dissertation summary). *Acta Universitatis Uppsaliensis. Comprehensive Summaries Uppsala Dissertations, Faculty of Science and Technology* 295. 18 Uppsala.
- SENNBLAD, B. & BREMER, B. 1996.** The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with *rbcL* data. *Plant Systematics and Evolution* 202: 153-175.
- SENNBLAD, B. & BREMER, B. 2002.** Classification of Apocynaceae s.l. according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. *Systematic Biology* 51: 389-409.
- SENNBLAD, B. ENDRESS, M. E. & BREMER, B. 1998.** Morphology and molecular data in phylogenetic fraternity: the tribe Wrightieae (Apocynaceae) revisited. *American Journal of Botany* 85 (8): 1143-1158.
- SIMÕES, A. O. LIVSHULTZ, T. CONTI, E. & ENDRESS, M. E. 2007.** Phylogenetic and systematics of the Raulvolfoideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 268.
- SPINA, A. P. BITTRICH, V. & KINOSHITA, L. 2013.** Typifications, new synonyms and a new combination in *Himatanthus* (Apocynaceae). *TAXON* 62: 1304-7.
- STEBBINS, G. L. 1974.** *Flowering plants: Evolution above the species level*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA.
- STEVENS, W. D. 1976.** A revision of *Matelea* subg. *Dictyanthus* (Apocynaceae, sensu lato). Ph.D. diss., Michigan State University.

- STRUWE, L. ALBERT, V. A. & BREMER, B. 1994.** Cladistics and family level classification of Gentianales- Cladistic 10: 175-206.
- THORNE, R. F. 1976.** A phylogenetic classification of the Angiospermae. Evolutionary Biology 9: 35-106.
- THORNE, R. F. 1992.** An updated phylogenetic classification of the flowering plants. Aliso 13: 365-389.
- VEILLON, J. M. 1971.** Une Apocynacee monocarpique de Nouvelle- 'Caledonie' *Cerberiopsis candelabrum* Vieill. Adansonia 11:625-639.
- WOODSON, R. E. 1930.** Studies in the Apocynaceae. I. A critical study of the Apocynoideae (with special reference to the genus *Apocynum*). Annals of Missouri Botanical Garden 17: 1-213.
- WOODSON, R. E. 1938.** Studies in the Apocynaceae. VII - An evaluation of the genera *Plumeria* L. and *Himatanthus* Willd. Annals of Missouri Botanical Garden 25:189-24.
- WOODSON, R. E. 1939.** New or otherwise noteworthy Apocynaceae of Tropical America. VII. Annals of Missouri Botanical Garden 26: 257-259.

Capítulo 1.

Sistemática filogenética da tribo Plumerieae E. Mey. (GRADO RAUVOLFIOIDE, APOCYNACEAE).

Emília Rosiane Kotovski Tozo Bisinoto¹ & André Olmos Simões²

¹ ²*Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Postal Code 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.*

Autor para correspondência: Emília R. Kotovski Tozo Bisinoto, emikoto@yahoo.com.br

RESUMO

Plumerieae é uma pequena tribo do grado rauvolfioide, compreendendo dez gêneros e 53 espécies. Este estudo apresenta o maior conjunto de dados moleculares para este grupo, usando dados de sequências de DNA de três regiões plastidiais (íntrons *rpl16* e *rps16*, e espaçador intergênico *trnS-G*) e de duas regiões nucleares ribossomais (ITS1 e ITS2). As análises combinadas entre *cpDNAs* e *nrDNAs* com 62 espécies, sendo 36 de Plumerieae, usando a Máxima parcimônia e Inferência Bayesiana, tiveram como objetivo testar o monofiletismo da tribo e de seus gêneros constituintes, bem como estabelecer as relações das demais tribos do grado rauvolfioide com a tribo Plumerieae. Hunterieae é a tribo mais proximamente relacionada à Plumerieae, sendo Plumerieae monofilética e grupo-irmão de Carisseae. Dois grandes clados principais são observados em Plumerieae: clado I formado pelas subtribos Plumeriinae e Allamandinae e, clado II formado pela subtribo Thevetiinae. Todas as três subtribos foram recuperadas. O gênero *Allamanda* é grupo-irmão do clado Plumeriinae. *Mortoniella pittieri* é mantido aqui como gênero monoespecífico, sendo grupo-irmão do gênero *Plumeria*. O gênero monoespecífico *Anechites nerium* é grupo-irmão de todos os demais gêneros da subtribo Thevetiinae, sendo o gênero *Skytanthus* grupo-irmão do clado formado por *Thevetia-Cameraria-Cerberiopsis-Cerbera*. O gênero *Thevetia* é grupo-irmão do clado *Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis*, sendo o gênero *Cameraria* grupo-irmão do clado composto pelos gêneros *Cerbera* e *Cerberiopsis*. Todos os gêneros aqui analisados são monofiléticos com alto valor de sustentação, assim como houve forte sustentação para os demais clados supragenéricos formados na tribo.

Palavras-chave: *cpDNA*; filogenia molecular; Gentianales; ITS

Título abreviado: Filogenia molecular de Plumerieae

ABSTRACT

Plumerieae is a small tribe of the rauvolfioid grade, comprising 10 genera and 53 species. This study presents the largest set of molecular data for this group, using DNA sequences data from three plastid regions (introns *rpl16* and *rps16*, and intergenic spacer *trnS-G*) and two ribosomal nuclear regions (ITS1 and ITS2). The combined analyzes of *cpDNAs* and *nrDNAs* with 62 species, 36 of Plumerieae, using Maximum Parsimony and Bayesian Inference had as objective to test the monophyletic of the tribe and its constituent genera, as well as to establish the relations of the other tribes of the rauvolfioid grade with the Plumerieae tribe. Hunterieae is the tribe most closely related to Plumerieae, being Plumerieae monophyletic and sister group of Carisseae. Two major clades were observed in Plumerieae: clade I formed by the subtribes *Plumeriinae* and *Allamandinae*, and clade II formed by the subtribe *Thevetiinae*. All these three subtribes were recovered. The genus *Allamanda* is the sister group of the *Plumeriinae* clade. *Mortoniella pittieri* is kept here as monospecific genus, being sister group of the *Plumeria* genus. The monospecific genus *Anechites nerium* is the sister group of all other genera of the subtribe *Thevetiinae*, being the genus *Skytanthus* group sister of the clado formed by *Thevetia*-*Cameraria*-*Cerberiopsis*-*Cerbera*. The genus *Thevetia* is sister group of the *Cameraria*-*Cerbera*-*Cerberiopsis* clade, being the genus *Cameraria* sister group of the clado composed by genera *Cerbera* and *Cerberiopsis*. All the genera analyzed here are monophyletic with high support value, as well as strong support for the other suprageneric clades formed in the tribe.

Keywords: *cpDNA*; Gentianales; ITS; molecular phylogenetics

Short title: Molecular phylogeny of Plumerieae

INTRODUÇÃO

Plumerieae E. Mey. é uma das mais derivadas tribos do grado rauvolfioide (Simões *et al.* 2016). Esta tribo (**Figura 1**) compreende 10 gêneros organizados em três subtribos (Endress *et al.* 2014): 1) Plumeriinae, com três gêneros (*Himatanthus* Willd. ex Schult. -9 spp., *Mortoniella* Woodson – 1 sp., e *Plumeria* L. - 7-8 spp.); 2) Allamandinae, com apenas um gênero (*Allamanda* L. -15 spp.); e 3) Thevetiinae, com 6 gêneros (*Anechites* Griseb. - 1 sp., *Cameraria* L. - 3 spp., *Cerbera* L. - 4 spp., *Cerberiopsis* Viell. ex Pancher & Sébert - 3-4 spp., *Skytanthus* Meyen - 2 spp., e *Thevetia* L. - 8 spp.) (Endress *et al.* 2014). Os gêneros de Plumerieae ocorrem em regiões tropicais e subtropicais das Américas, África, Ásia e Oceania (Veillon 1971, Fallen 1983, Sakane & Shepherd 1986, Leeuwenberg 1999, Endress & Bruyns 2000, Spina 2004, Morales 2005, 2009a, 2013 e Alavarado-Cárdenas *et al.* 2016).

O grande potencial paisagístico que Plumerieae possui faz com que várias espécies sejam largamente utilizadas como plantas ornamentais, atingindo, desta forma, uma distribuição cosmopolita. Podemos destacar, neste contexto, espécies de *Plumeria* (*P. alba* L., *P. pudica* Jacq. e *P. rubra* L.), *Allamanda* (*A. blanchetti* A. DC., *A. cathartica* L., *A. schottii* Pohl, entre outras), *Cerbera* (*C. odollam* Gaertn. e *C. manghas* L.), e *Thevetia* (principalmente *T. ahouai* (L.) A. DC. e *T. peruviana* (Pers.) K. Schum.) (Endress & Bruyns 2000, Endress *et al.* 2014, Nascimento & Coelho 2016 e www.ceapdesign.com.br). Outras espécies também são utilizadas na medicina popular, como anti-inflamatório, vermicida, emético, purgativo, catártico, tratamento contra o câncer, diabetes, dermatite, entre outros usos, e muito citadas em estudos fitoquímicos e farmacológicos, como por exemplo os táxons de *Allamanda*, *Himatanthus* e *Plumeria* (Agra *et al.* 2007b, Hamburger *et al.* 1991 e Gupta *et al.* 2006). Mas a toxicidade também está presente em muitas espécies. A ingestão pode desencadear distúrbios gastrointestinais intensos, como visto em *Allamanda*, ou casos mais extremos, podendo levar até ao óbito em caso de ingestão de sementes de *Cerbera* e *Thevetia*, o que é responsável por muitos quadros de envenenamento na Venezuela, Madagascar, Índia e Sri Lanka (Bandara *et al.* 2002, Gaillard *et al.* 2004, Salinas 2010).

Plumerieae é a mais heterogênea tribo do grado rauvolfioide. Suas espécies podem ser árvores, arbustos e mais raramente lianas (*Anechites*), com filotaxia alterna, oposta ou verticilada e sem estípulas. A morfologia floral, principalmente dos verticilos reprodutivos, é particularmente variada. Esta heterogeneidade das flores está mais relacionada à presença ou ausência de estruturas como coléteres calicinais, presença de

corona, morfologia geral dos estames, disposição latrorsa ou introrsa das tecas e presença ou ausência de apêndices supra-anterais deltoides, presença ou ausência de nectários, o grau de fusão e posição do ovário (hemissincárpico ou sincárpico, semi-ínfero ou súpero, respectivamente) e morfologia da cabeça do estilete. Além da tribo também apresentar frutos foliculares, drupoides, capsulares, samaroides e mericárpicos, e sementes nuas ou aladas (Endress & Bruyns 2000, Alvarado-Cádenas & Ochoterena 2007 e Endress *et al.* 2007). Esta extrema diversidade das características vegetativas e reprodutivas potencializou a dificuldade do reconhecimento da tribo Plumerieae e das relações entre seus gêneros constituintes (ex., Schumann 1895, Pichon 1948a, b, 1949, 1950 e Leeuwenberg 1994), sendo que a circunscrição atual da tribo emergiu apenas em estudos filogenéticos baseados em dados moleculares (ex., Potgieter & Albert 2001, Sennblad & Bremer 2002 e Simões *et al.* 2007). Isto teve grande relevância nas classificações dos seus representantes ao longo da história taxonômica da família, sendo separados em diferentes grupos dentro de Apocynaceae, desde Adanson (1768) até Endress & Bruyns (2000), ficando inalterada desde então (De Candolle 1844, Schumann 1895, Woodson 1930, Pichon 1948a, b, c, 1950, Allorge *et al.* 1981, Leeuwenberg 1994, Endress & Bruyns 2000 e Endress *et al.* 2014). Um conjunto de trabalhos que merece destaque é o de Pichon (1948a, 1948b, 1949, 1950), que continha muitas informações novas e detalhadas sobre morfologia e taxonomia do grupo, oferecendo uma melhora significativa em relação às classificações propostas até então. A influência dos trabalhos de Pichon (1948a, b, 1949, 1950) é observada em classificações posteriores, especialmente em Leeuwenberg (1994). Apesar deste aporte de conhecimento, as tribos de Apocynaceae, especialmente do grado rauvolfioide, ainda eram baseadas principalmente em caracteres de fruto e sementes. Os caracteres florais, por sua vez, foram utilizados por Pichon (1948a, b, 1949, 1950) principalmente na delimitação de subtribo, gêneros e espécies.

Dada a grande heterogeneidade na morfologia de frutos e sementes de Plumerieae em sua circunscrição atual, não é surpreendente que os seus gêneros fossem posicionados por Pichon (1948a, b, 1949, 1950) em tribos e até mesmo subfamílias diferentes, junto com gêneros que hoje compõem tribos bem distintas, como Alstonieae e Carisseae. Uma comparação da classificação de Pichon (1948a, 1948b, 1949, 1950b) e Leeuwenberg (1994), para os gêneros de Plumerieae em suas categorias supragenéricas, junto com a mais nova classificação de Endress *et al.* (2014) é mostrada na **Tabela 1**.

Além desses conflitos na classificação referidos acima, outros problemas estiveram presentes, como a delimitação e circunscrição dos gêneros, principalmente entre gêneros proximamente relacionados. Os gêneros *Cerbera* e *Thevetia* tiveram uma história taxonômica muito confusa e complexa, com recombinações entre as espécies de um gênero para o outro e mesmo para um terceiro gênero, ou até mesmo a exclusão do gênero *Thevetia*, criando novos gêneros como *Ahouai* ou *Plumeriopsis*, dependendo do autor (Miller 1754, Bochmer 1760, Schumann 1895, Rusby & Woodson 1937 e Pichon 1947). O gênero *Cerbera* também foi descrito com outros nomes, como por exemplo *Odollam*, *Odollamia* e *Tanghinia* (Adanson 1763, Tournefort 1806), mas ao longo de sua história taxonômica voltou a compor o grupo hoje conhecido e distinto de *Thevetia* (Lippold 1980 e Leeuwenberg 1999). Contudo, mesmo depois da consolidação desses dois gêneros (*Cerbera* e *Thevetia*), *Thevetia* ainda tem gerado divergência de opinião entre diferentes autores que sugerem a separação em dois distintos gêneros, *Thevetia* e *Cascabela* (Miller 1754, Woodson 1937, Gensel 1969, Lippold 1980, Morales 2005 e Alvarado-Cárdenas & Ochoterene 2007). As características que ancoram a distinção entre *Cascabela* e *Thevetia*, decorre das diferenças das suas estruturas florais e do fruto, principalmente pelos apêndices suprastaminais em forma de dedo, drupas com endocarpo pétreo e sementes não compressas com asas reminiscentes, presente apenas em *Cascabela* (Alvarado-Cárdenas *et al.* 2017). Outros gêneros que tiveram problemas históricos são *Himatanthus* e *Plumeria*. Por muito tempo as espécies registradas para a América do Sul foram citadas como *Plumeria*, sendo o erro desfeito por Woodson (1938) que percebeu o equívoco, transferindo as espécies da América do Sul para o gênero *Himatanthus*, até então tido como monotípico (*Himatanthus rigidus* Willd. ex Roem. & Schult., sinônimo de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson). Woodson (1939) também reconheceu um novo gênero, *Mortoniella* que, para alguns autores, corresponde a uma espécie parente ao gênero *Plumeria*. Em contrapartida aos problemas de classificação desses grupos de plantas com muitas características morfológicas compartilhadas, diferentes estudos sugeriram afinidades entre alguns determinados gêneros. Um exemplo é o trabalho de Fallen (1983), que em revisão taxonômica de *Anechites*, sugeriu que os gêneros *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Thevetia* estariam mais proximamente relacionados com aquele gênero, assim como os gêneros *Cameraria* e *Skytanthus*. A possível proximidade entre todos estes gêneros citados acima, segundo a autora, deve-se à morfologia floral similar, principalmente por apresentarem estames com tecas de deiscência lateral (latrorsas) e frequentemente com apêndices apicais filiformes

e cabeça do estilete diferenciada. Endress & Bruyns (2000), por sua vez, observaram que os gêneros *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, também estariam relacionados entre si, não apenas pela morfologia floral (ovário semi-ínfero, cabeça do estilete sem projeções apicais ou basais), mas também pela estrutura de frutos e sementes (folículos secos com sementes aladas). O gênero *Allamanda*, descrito por Aublet (1775) como *Orelia*, é outro caso bastante complexo. Este gênero sempre foi mantido como grupo isolado em Apocynaceae, pela característica das anteras, ovário e pelos frutos capsulares, ora constituindo uma tribo e ora compondo uma subtribo monogenérica (Allorge *et al.* 1981, Fallen 1985 e Endress *et al.* 2014).

O reconhecimento de três agrupamentos genéricos (*Allamanda*, *Himatanthus-Mortoniella-Plumeria* e *Anechites-Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis-Skytanthus-Thevetia*) baseados em caracteres reprodutivos já havia sido sugerido em diversos estudos (ex., Pichon 1948a, b, c, Fallen 1980 e Plumel 1991), mas a proximidade destes grupos só foi evidenciada posteriormente, em estudos filogenéticos (ex., Potgieter & Albert 2001, Endress *et al.* 2007, Simões *et al.* 2007, 2010, 2016). Estes estudos, baseados principalmente em dados moleculares, possuíam um enfoque mais amplo na família, ou em outras tribos de Apocynaceae que não Plumerieae. Por esta razão, a quantidade de táxons de Plumerieae amostrados por estes autores é baixa em comparação ao número total de espécies, e nunca contemplando todos os gêneros reconhecidos nesta tribo. A importância destes estudos filogenéticos, no contexto mais amplo, foi demonstrar que as propostas de classificação em Apocynaceae eram em parte artificiais, não refletindo os relacionamentos filogenéticos entre os táxons. Desta forma, Endress & Bruyns (2000), com base em todas as evidências morfológica, anatômica e filogenética disponíveis até então, transferiram diversos gêneros constituintes de “Plumerieae” sensu Leeuwenberg (1994) para três tribos distintas, Alstonieae, Melodineae e Vinceae. Além disso, reconheceram outros gêneros considerados estreitamente relacionados, mas posicionados em outras tribos e subtribos, como *Allamanda*, *Cerbera* e *Thevetia*, para assim estabelecer uma nova recircunscrição da tribo Plumerieae. Posteriormente, Potgieter & Albert (2001) analisaram as relações filogenéticas dentro de Apocynaceae baseadas em dados moleculares (íntron *trnL* e espaçador intergênico *trnL-F*) e características morfológicas de frutos e sementes. Neste estudo, os gêneros *Allamanda*, *Himatanthus* e *Plumeria* já se mostravam como gêneros proximamente relacionados, formando um clado fortemente sustentado, sendo *Allamanda* o grupo-irmão de *Himatanthus-Plumeria*. Estes autores também observaram uma provável proximidade filogenética entre *Skytanthus*, *Thevetia*,

Cerbera e *Cerberiopsis*, que formaram um clado com sustentação moderada, apesar da inclusão de *Pteralyxia kauaiensis* Caum. (Alyxieae) neste clado e o posicionamento de uma espécie de *Thevetia* (*T. peruviana*), como grupo-irmão de espécies do gênero *Amsonia* (Amsonieae). Sennblad & Bremer (2002), em uma nova proposta de classificação infrafamiliar de Apocynaceae, baseada em dados moleculares (*rbcL* e *ndhF*), também identificaram a proximidade entre *Allamanda* e *Plumeria*, ambas formando um clado, assim como visto no estudo anterior (Sennblad & Bremer 1996). Para estes autores, os gêneros *Anechites*, *Cameraria*, *Cerbera* e *Thevetia* também eram proximamente relacionados, formando um clado, com *Cameraria* como grupo-irmão dos demais gêneros, e o gênero *Cerbera* como grupo-irmão do clado *Anechites-Thevetia*. Estas relações, no entanto, apresentavam apenas sustentação moderada ou baixa. Outros trabalhos como Spina (2003) e Livshultz *et al.* (2007) também contribuíram para ampliar o conhecimento sobre as relações filogenéticas em Plumerieae. Spina (2003), em estudo filogenético de *Himatanthus*, utilizando ITS, observou a presença de um clado com representantes de *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, sendo *Mortoniella* mais relacionado com *Himatanthus* do que com o gênero *Plumeria*. Livshultz *et al.* (2007), em amplo estudo na família Apocynaceae baseado em cinco marcadores plastidiais (gene *matK*, íntrons *rpl16* e *rps16*, íntron *trnL* e espaçador intergênico *trnL-F*) e caracteres morfológicos, corroboraram o monofiletismo da tribo Plumerieae, e assim como Sennblad & Bremer (2002), reportaram o gênero *Allamanda* como grupo-irmão de *Plumeria-Himatanthus*. Neste mesmo estudo, *Thevetia* forma um clado com *Cerbera* e *Cerberiopsis*, demonstrando a afinidade entre estes três gêneros.

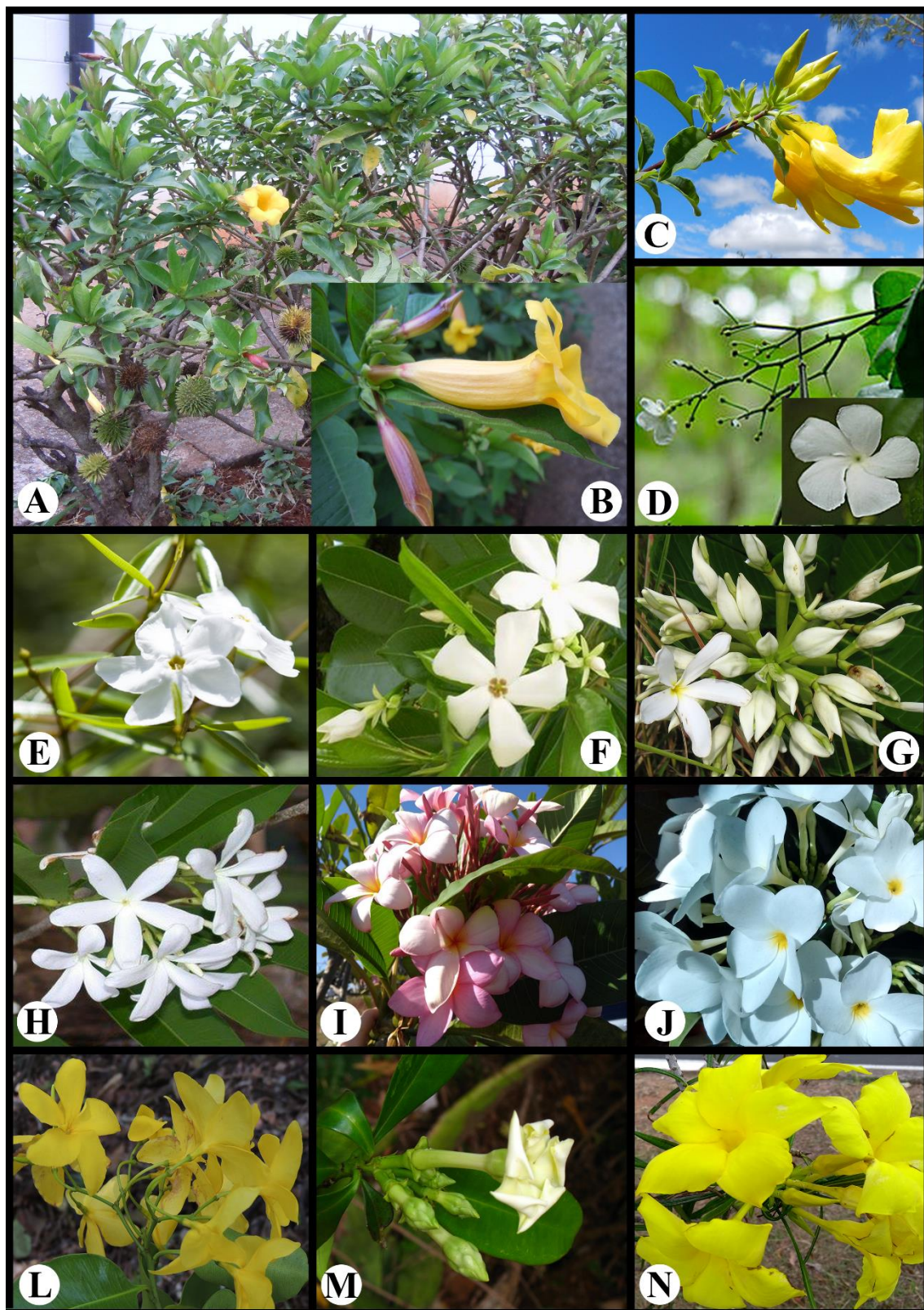
No estudo filogenético mais recente da família Fishbein *et al.* (2018), também confirmaram o monofiletismo de Plumerieae, mas não determinaram o seu grupo-irmão, recuperando Alyxieae e Amsonieae como prováveis grupos mais próximos de Plumerieae.

Tendo em vista o melhor entendimento da família Apocynaceae e do grado rauvolfioide, estudos recentes têm como foco a delimitação e o entendimento das relações filogenéticas entre tribos, gêneros e espécies (ex. Liede & Täuber 2002, Liede-Schumann *et al.* 2005, Wanntorp *et al.* 2006, Endress *et al.* 2007 e Simões *et al.* 2010, 2016). Neste contexto, o presente estudo visa a testar o monofiletismo de Plumerieae e determinar seu posicionamento em Apocynaceae a partir de uma ampla amostragem de espécies do grupo. De forma complementar, será testado o monofiletismo de todos os gêneros atualmente reconhecidos em Plumerieae, e o provável relacionamento entre *Allamanda*-

Himatanthus-Mortoniella-Plumeria e *Anechites-Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis-Skytanthus-Thevetia* observado em estudos anteriores.

Tabela 1. Comparação de três classificações referidas para os atuais gêneros de Plumerieae com base em categorias supragenéricas. Traço (-): sem subdivisão em subtribo.

Gênero	<i>Pichon (1948-1950)</i>			<i>Leeuwenberg (1994)</i>			<i>Endress et al. (2014)</i>		
	Subfamília	Tribo	Subtribo	Subfamília	Tribo	Subtribo	Subfamília	Tribo	Subtribo
<i>Allamanda</i>	Plumerioideae	Allamandaeae	-	Plumerioideae	Allamandaeae	-	Rauvolfioideae	Plumerieae	Allamandinae
<i>Anechites</i>	Plumerioideae	Rauvolfieae	Anechitinae	Plumerioideae	Alyxieae	Condyllocarpinae	Rauvolfioideae	Plumerieae	Thevetiinae
<i>Cameraria</i>	Cerberoidaeae	Thevethieae	Camerariinae	Plumerioideae	Cerbereae	-	Rauvolfioideae	Plumerieae	Thevetiinae
<i>Thevetia</i>	Cerberoidaeae	Thevethieae	Thevetiinae	Plumerioideae	Cerbereae	-	Rauvolfioideae	Plumerieae	Thevetiinae
<i>Cerbera</i>	Cerberoidaeae	Thevethieae	Cerberinae	Plumerioideae	Cerbereae	-	Rauvolfioideae	Plumerieae	Thevetiinae
<i>Cerberiopsis</i>	Cerberoidaeae	Thevethieae	Camerariinae	Plumerioideae	Cerbereae	-	Rauvolfioideae	Plumerieae	Thevetiinae
<i>Himatanthus</i>	Plumerioideae	Alstonieae	Plumeriinae	Plumerioideae	Plumerieae	Plumeriinae	Rauvolfioideae	Plumerieae	Plumeriinae
<i>Mortoniela</i>	Plumerioideae	Alstonieae	Plumeriinae	Plumerioideae	Plumerieae	Plumeriinae	Rauvolfioideae	Plumerieae	Plumeriinae
<i>Plumeria</i>	Plumerioideae	Alstonieae	Plumeriinae	Plumerioideae	Plumerieae	Plumeriinae	Rauvolfioideae	Plumerieae	Plumeriinae
<i>Skytanthus</i>	Cerberoidaeae	Skytantheae	-	Plumerioideae	Cerbereae	-	Rauvolfioideae	Plumerieae	Thevetiinae



Prancha 1: Morfológica floral em Plumerieae. A e B, *Allamanda schottii*; C, *Allamanda puberula*; D, *Anechites nerium*; E, *Cameraria latifolia*; F, *Cerbera odollam*; G, *Himatanthus obovatus*; H, *Mortoniella pittieri*; I, *Plumeria rubra*; J, *Plumeria pudica*; L, *Skytanthus hancorniiifolius*; M, *Thevetia ahouai* e N, *Thevetia peruviana*. **Fotos:** A, B, C, I, J e N (E. R. Kotovski); D (P. Acevedo); E (etc.usf.edu); F (J. S. W. Wong); G e M (A. O. Simões); H (J. F. Morales); L (G. H. Shimizu).

MATERIAL E MÉTODOS

Táxons amostrados

Um total de 46 espécies, incluindo representantes de todas as subtribos e gêneros, reconhecidos em Plumerieae por Endress *et al.* (2014), foram definidos como grupo interno. Uma relação entre o número de espécies de Plumerieae amostradas e o número total de espécies reconhecidas em cada gênero é apresentado na **Tabela 2**. Representantes de sete tribos do grado rauvolfioide, Alyxieae (5 spp.), Carisseae (4 spp.), Hunterieae (4 spp.), Melodineae (6 spp.), Tabernaemontaneae (2 spp.), Vinceae (2 spp.) e Willughbeieae (1 sp.), foram selecionados como grupo externo. Duas espécies de *Aspidosperma* (*Aspidosperma australe* Müll.Arg. e *Aspidosperma cylindrocarpon* Müll.Arg.), da tribo Aspidospermeae, e uma de *Alstonia* (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.), da tribo Alstonieae, foram selecionadas como táxons de enraizamento, seguindo o mesmo procedimento adotado em estudos filogenéticos anteriores para outras tribos do grado rauvolfioide (Simões *et al.* 2010, 2016). Informações mais detalhadas sobre a lista dos táxons analisados e os vouchers são apresentados no **Apêndice 1**.

Extração, amplificação, sequenciamento e alinhamento do DNA.

Alíquotas de DNA genômico total foram obtidas a partir da extração de 0,2-0,3g de tecido foliar seco, preservado em sílica gel ou de coleção de herbário, usando o método CTAB (Doyle & Doyle 1987) ou por meio de DNeasy Plant mini kit (Qiagen, Hilden, Germany), seguindo o protocolo do fabricante, com a adição em ambos os casos de proteinase K (2 µl por amostra, 20 mg / ml) e RNase (10 µl por amostra, 20 mg / ml). Detalhes dos protocolos de extração são apresentados no Apêndice 3. As reações em Cadeia da Polimerase (PCR) foram conduzidas para a amplificação das duas regiões de *nrDNA* (ITS1 e ITS2) e três de *cpDNA* (íntrons *rpl16* e *rps16*, espaçador intergênico *trnSG*) de interesse. Os iniciadores utilizados nas reações de PCR estão listados na tabela 3. Optamos por uma combinação de três marcadores plastidiais e dois nucleares, porque queríamos resolução tanto entre grupos bastante divergentes, quanto entre grupos proximamente relacionados. Nossa escolha foi determinada em grande parte pelo fato desses marcadores terem sido usados com sucesso em estudos anteriores na família (ex., Livshultz *et al.* 2007; Simões *et al.* 2007, 2010, 2016), especialmente para os íntrons *rpl16* e *rps16*. O espaçador intergênico *trnS-G* é uma região plastidial não codificante, e mostrou ser um bom marcador em Apocynaceae, apresentando satisfatória resolução em estudos filogenéticos. Já os espaçadores internos transcritos do DNA ribossomal nuclear

(ITS1 e ITS2), diferente dos outros marcadores, possuem herança biparental, e podem sofrer mutações em eventos de inserção de deleção (indels) e, por isso úteis para melhorar reconstrução filogenética, principalmente entre as espécies.

Tanto em *rpl16* quanto em *rps16* foram gerados dois fragmentos para cada região, usando primers internos. A amplificação em PCR foi conduzida a partir de 25 µl de solução contendo os seguintes componentes de reação: 1,5 µl de DNA total, 1 µl de cada primer, 0.5 unidades de Taq DNA polimerase Green Master, mais o acréscimo de 0.2 µg/µl de Betaína, 0.2 µg/µl de dimetil sulfoxida 5% (DMSO) e 0.2 µg/µl de Albumina do soro bovino (BSA) (**Tabela 3**). As reações foram feitas com uso dos termocicladores TC-412 e TC-512 da Techne e MyCycler da Bio-Rad, sendo programados com os seguintes parâmetros: pré-tratamento de três minutos a 94°C, 35 ciclos constituídos por três fases cada ciclo: denaturação por 30 segundos a 94°C, anelamento por um minuto com temperatura variando entre 52 °C e 61°C, dependendo de cada marcador (**Tabela 4**), extensão do DNA por um minuto e 30 segundos a 72°C, e pós tratamento de cinco minutos a 72°C. Os produtos da PCR tiveram sua qualidade checada visualmente por eletroforese em gel de agarose a 1%. As amostras que não amplificaram pelos parâmetros citados acima, passaram por outras metodologias como, Stand Up, StepUp ou Gradiente de temperatura. Os produtos amplificados via PCR foram posteriormente purificados usando ExoSAP-IT (USB, USA) na proporção: 5 µl DNA, 1 µl de Exo e 2 µl de SAP, utilizando um ciclo no termociclador de 45 minutos a 37°C e 15 minutos a 80°C, ou purificados por meio de kit de purificação de DNA Genomic Wizard (Promega, Madison, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Após a quantificação das purificações com uso de eletroforese em gel de agarose 1%, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Biologia Molecular de Plantas (CBMEG, Unicamp) para o sequenciamento em um sequenciador automático ABI 3500xL (Applied Biosystems, Foster City, EUA), usando os mesmos primers da amplificação. Os eletroferogramas gerados, acrescidos de sequências obtidas no Genbank, foram analisados e sequências de consenso foram construídas para cada táxon no programa Geneious v. 10.2.3 (Biomatters *Ltd.*). As sequências de consenso dos cinco marcadores individuais foram organizadas na forma de matrizes, a partir das quais foram gerados alinhamentos múltiplos pelo algoritmo MAFFT (versão 7.017; Katoh *et al.* 2013), utilizando o *plugin* implantado no Geneious v. 10.2.3 (Biomatters *Ltd.*). A estratégia utilizada foi a G-INS-i (Katoh *et al.* 2013). Os alinhamentos obtidos foram então editados manualmente no programa Mesquite v. 3.04 (Maddison & Maddison 2015).

Tabela 2: lista dos gêneros e espécies da tribo Plumerieae incluídas na análise filogenética, indicando sua porcentagem em relação ao número total de espécies em cada gênero.

Gênero	Espécies incluídas/espécies total	Porcentagem
<i>Allamanda</i>	9/15	60%
<i>Anechites</i>	1/1	100%
<i>Cameraria</i>	2/3	67%
<i>Cerbera</i>	3/6	50%
<i>Cerberiopsis</i>	2/3	67%
<i>Himatanthus</i>	7/9	78%
<i>Mortoniela</i>	1/1	100%
<i>Plumeria</i>	7/7	100%
<i>Skytanthus</i>	1/2	50%
<i>Thevetia</i>	4/8	50%

Tabela 3: Informações sobre os primers usados para amplificação e sequenciamento.

Região	Primers	Sequência do primer (5'- 3')	Referência
<i>rpl16</i>	F71	5'-GCTATGCTTAGTGTGTGACTCGTTG-3'	Baum & Wendel 1998
	R1516	5'-CCCTTCATTCTTCTCTATGTTG-3'	Baum & Wendel 1998
	513F	5'-GGGAACGATGGAAGCTGTGAATGC-3'	Simões <i>et al.</i> 2004
	542R	5'-CGCGGGCGAATATTTACTCTTC-3'	Simões <i>et al.</i> 2004
<i>rps16</i>	F	5'-TGGTAGAAAGCAACGTGCGACTT-3'	Oxelman <i>et al.</i> 1997
	R2	5'TCGGGATCGAACATCAATTGCAAG-3'	Oxelman <i>et al.</i> 1997
	387Fa	5'-CACCGAAGTAATGCCTAAACC-3'	Simões <i>et al.</i> 2004
	497Ra	5'-GGATTCTKAAGTCTGGCCCAG-3'	Simões <i>et al.</i> 2004
<i>trnS-G</i>	trnS	5'-GCCGCTTTAGTCCACTCAGC-3'	Hamilton 1999
	trnG	5'-GAACGAATCACACTTTTACCAC-3'	Hamilton 1999
ITS1	17SE	5'ACGAATTCATGGTCCGCTGAAGTGTCCG3'	Sunet <i>et al.</i> 1994
	18S_25F	5'AAGTCGTAACAAGTTTCCGT'	Pereira <i>et al.</i> 2017
	5.8/1	5'GTTGCCGAGAGTCGT3'	Sunet <i>et al.</i> 1994
	5.8_115R	5'CTAATGGCTTCGGGGCGCAAC3'	Pereira <i>et al.</i> 2017
ITS2	26S_21R	5'TGCTTAAACTCAGCGGTAGT3'	Pereira <i>et al.</i> 2017
	26SE	5'TAGAATTCCCCGGTTCGCTCGCCGTTAC3'	Sunet <i>et al.</i> 1994
	5.8/2	5'GCCTGGGCGTCACGC3'	Sunet <i>et al.</i> 1994
	5.8_20F	5'TCTCGCATCGATGAAGAACGT3'	Pereira <i>et al.</i> 2017

Tabela 4: Marcadores usados, indicando seus iniciadores correspondentes e sua temperatura de anelamento.

Região	Forward	Reverse	Temperatura de anelamento
<i>rps16</i>	F	R2	52°C
	387Fa	497Ra	52°C
<i>trnS-G</i>	<i>trnS</i>	<i>trnG</i>	52°C
<i>rpl16</i>	F71	R1516	58°C
	513F	542R	58°C
	F448	R960	58°C
ITS1	17SE	5.8/1	60°C
	18S_25F	5.8_115R	62°C
ITS2	26SE	5.8/2	60°C
	26S_21R	5.8_20F	61°C

Análise filogenética

As análises filogenéticas foram realizadas para oito matrizes de dados: os cinco marcadores moleculares individuais (íntron *rpl16*, *rps16*, Espaçador intergênico *trnS-G*, Espaçador Interno Transcrito ITS1 e ITS2), os marcadores de *cpDNA* combinados (*rpl16*, *rps16* e *trnS-G*), os dois marcadores do *nrDNA* combinados (ITS1 e ITS2), e os marcadores de *cpDNA* e *nrDNA* combinados. Os conjuntos de dados foram analisados pelos critérios de Máxima Parcimônia (MP) e Inferência Bayesiana (IB). Os modelos de substituição de DNA para as análises de Inferência Bayesiana foram selecionados para cada marcador através do JModeltest (Darriba *et al.* 2012), implementado na plataforma CIPRES Science Gateway (<http://www.phylo.org/> Miller *et al.* 2010).

As análises de MP foram realizadas no programa PAUP * v.4.0b10 (Swofford 2002). Todos os caracteres foram considerados não-ordenados e igualmente ponderados. Os parâmetros utilizados foram os mesmos de Simões *et al.* (2007, 2016), conforme descrito a seguir. Uma busca heurística para as detectar as árvores mais parcimoniosas incluiu uma rodada inicial de buscas em árvore com 1000 réplicas aleatórias de sequências de adição (RASR), retendo 10 árvores em cada passo, a partir do algoritmo “*tree bisection and reconnection*” (TBR), com as opções MULTREES e *steepest descent* ativadas, salvando um máximo de 100 árvores em cada réplica. Todas as árvores mais

curtas retidas na memória foram então incluídas em uma segunda rodada de buscas heurísticas, também pelo algoritmo TBR. As árvores mais parcimoniosas foram então combinadas na forma de uma árvore de consenso estrito. O suporte relativo dos clados foi estimado por reamostragem de *bootstrap* (Felsenstein 1985) implementada no programa PAUP. Para tal, foi feita uma busca heurística com 1000 réplicas, 250 RASR com três árvores mantidas em cada etapa e geração de novas árvores pelo algoritmo TBR, com as opções MULTREES e *steepest descente* ativadas, salvando 10 árvores em cada RASR. Valores de suporte de *bootstrap* (BS) de 50% - 74% foram considerados fracos, 75% - 84% como moderados e $\geq 85\%$ como fortemente suportados. A árvore de consenso estrito foi editada no FigTree v.1.4.2 (Drummond *et al.* 2012), e os valores de bootstrap foram inseridos manualmente no programa Adobe Photoshop CS6 (2012).

As análises de IB foram realizadas no programa MrBayes v.3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012), implementado na plataforma online CIPRES (Miller *et al.* 2010). Os modelos ótimos de evolução sequencial foram testados para cada um dos cinco marcadores moleculares no programa jModelTest v.2.1.1 (Guindon & Gascuel 2003, Darriba *et al.* 2012), e selecionados pelo critério de informação bayesiana (BIC). As matrizes dos cinco marcadores foram analisadas separadamente, e as matrizes combinadas de *cpDNA*, *nrDNA* e evidência total foram analisadas aplicando modelos separados para cada partição de dados. Para cada análise, foram geradas vinte milhões de gerações em a partir do algoritmo Markov Chain Monte Carlo (MCMC), em duas buscas independentes com quatro cadeias cada, uma fria e três quentes. A frequência de amostragem foi ajustada para 2000, de forma a obter 10.000 árvores de maior probabilidade posterior. A convergência das cadeias MCMC foi examinada no programa Tracer v.1.6 (Rambaut *et al.* 2014), aceitando-se como convergentes cadeias nas quais os parâmetros estimados obtiveram valores de “*Estimated Sample Size*” (ESS) iguais ou superiores a 200. As árvores provenientes das primeiras 25% gerações amostradas foram consideradas como burn-in e descartadas. As árvores restantes foram então importadas para o programa TreeAnnotator v.1.8.2 (Drummond *et al.* 2012) para a geração de uma árvore de máxima credibilidade. Esta árvore foi então analisada e editada no programa FigTree v.1.4.2 (Drummond *et al.* 2012). As probabilidades posteriores (PP) ≥ 0.95 foram consideradas como fortemente sustentadas, e PP ≤ 0.95 como moderadamente a fracamente sustentadas.

RESULTADOS

Análise das matrizes individuais e concatenadas

Um total de 323 sequências foram geradas neste estudo. O número de táxons amostrados em cada matriz individual foi de 63 nos marcadores plastidiais e de 67 nos marcadores nucleares. Os valores de índice de consistência (IC), índice de retenção (IR), alinhamento dos marcadores plastidiais, número de caracteres informativos e número de passos obtidos na análise de MP são apresentados na **Tabela 5**. Para a análise de Inferência Bayesiana (IB), foram selecionados os seguintes modelos evolutivos para cada marcador: TPM1uf+G para íntron *rpl16*; TVM+G para o íntron *rps16*; HKY+G para espaçador intergênico *trnS*-G; GTR+I+G para ITS1 e TPM2uf+G para ITS2.

As análises MP e IB para cada marcador individual, apresentaram menor resolução e menor suporte do que as análises com dados concatenados, sendo que os marcadores plastidiais foram mais informativos, quando comparado com os marcadores nucleares. Não foram detectadas incongruências com alto valor de sustentação entre as análises individuais e concatenadas plastidiais e nucleares para o grupo interno. A única incongruência detectada entre as análises concatenadas do *cpDNA* e *nrDNA* foi no posicionamento de *Diplorhynchus condylocarpon* (Müll.Arg.) Pichon, e por esta razão este táxon foi excluído das análises baseadas na matriz de evidência total. As melhores topologias foram aquelas geradas para marcadores plastidiais concatenados (*cpDNA*) e *cpDNAs* concatenados com os nucleares (*nrDNA*). Para os resultados que serão descritos a seguir, a árvore de máxima credibilidade da análise de Inferência Bayesiana (IB), foi inferida para *cpDNA* concatenado, ITS concatenado e análise combinada de *cpDNA/nrDNA* (**Figuras 1, 2 e 3A**). Assim como uma árvore de consenso das árvores mais parcimoniosas geradas pela busca heurística, da análise de MP, que seguiu este mesmo critério de escolha (**Figura 3B**), mas para ITS concatenado e *cpDNA* concatenado, apenas serão mostrados os valores de *Bootstrap*, apresentadas nas **Figuras 1 e 2**. As árvores das análises individuais para cada marcador estão disponíveis no material suplementar, bem como as árvores de *cpDNAs* concatenado e de ITS concatenado da MP.

A aplicação de ambos os métodos de MP e IB para o conjunto de dados moleculares, resultou em topologias semelhantes. Contudo, as análises de IB resultaram em topologias melhor resolvidas com clados com melhor suporte estatístico em relação a maioria dos valores de *bootstrap* (BS) da MP, por isso a escolha das árvores de IB (ITS,

cpDNA concatenado e *cpDNA/ITS* concatenado) como figuras ilustrativas dos resultados (Figs 1, 2 e 3), além de uma árvore de consenso de MP (*cpDNA/ITS* concatenado), contida na Fig. 3, para corroborar os resultados da filogenia gerada no presente estudo.

Tabela 5: Número de acessos para cada marcador, estatísticas das características e das árvores das análises de parcimônia. Comprimento da árvore, Índice de consistência (IC), Índice de retenção (IR) e caracteres informativos. concat.= concatenado.

Informações	<i>rpl16</i>	<i>rps16</i>	<i>trnS-G</i>	<i>cpDNA</i>	ITS1	ITS2	ITS	<i>cpDNA+ITS</i>
Relevantes da MP				concat.			concat.	concat.
<i>N° de acessos</i>	63	63	63	63	67	67	67	64
<i>Comprimento do alinhamento</i>	1821	999	1430	4263	395	377	776	5039
<i>Caracteres. Informativos. da Parcimônia</i>	274	163	189	626	176	170	342	958
<i>Comprimento da árvore</i>	935	526	592	2065	1127	1005	2004	3970
<i>Índice de consistência (IC)</i>	0.7422	0.7662	0.7720	0.7525	0.3878	0.4388	0.4242	0.5970
<i>Índice de Retenção (IR)</i>	0.8288	0.8487	0.8350	0.8309	0.7100	0.7212	0.7225	0.7683

Análise de Inferência Bayesiana (IB)

Análise das árvores individuais de *cpDNA* total, *nrDNA* (ITS) e dados concatenados (*cpDNA+nrDNA*): Os dados combinados (*cpDNA/nrDNA*) mostraram melhor resolução e maior sustentação dos clados, tanto para as tribos do grupo externo que compõem o grado *rauvolfioide*, quanto para *Plumerieae*. As tribos *Vinceae*, *Willughbeieae* e *Tabernaemontaneae* juntas formam um clado. *Melodineae*, *Alyxieae*, *Hunterieae*, *Carisseae* e *Plumerieae*, estão bem resolvidos como clados monofiléticos, todos com PP=1 para dados concatenados (*cpDNA/nrDNA*). *Hunterieae* é a tribo mais proximamente relacionado à *Plumerieae* (PP= 0.98 concatenado, PP=0.87 *cpDNA*). Para ITS, *Gonioma* é grupo mais próximo à *Plumerieae* (PP=0.39). Para *cpDNA* e concatenado *Plumerieae* é grupo-irmão de *Carisseae* (PP=1). A tribo *Plumerieae* é fortemente sustentada como grupo monofilético para *cpDNA* e combinado (PP=1). Já para ITS, apesar de formar um clado, apresentou baixa sustentação (PP=0.55). Dentro de

Plumerieae, dois grandes clados foram observados (clado I e clado II). O clado I, que corresponde às subtribos Allamandinae e Plumeriinae, compõe os gêneros *Allamanda*, *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, com forte sustentação para *cpDNAs* e combinado (PP=1). Para ITS o clado apresentou baixa sustentação (PP=0.49). O clado II, que compõe a subtribo Thevetiinae, inclui os gêneros *Anechites*, *Cameraria*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia*, também apresentando alta sustentação para *cpDNA* e combinado (ambos PP=1). Para ITS, o clado II apresentou baixa sustentação (PP=0.81). **Analisando o clado I:** O gênero *Allamanda*, aparece como grupo-irmão do clado formado por *Himatanthus-Morotoniella-Plumeria* (*cpDNA* e combinado PP=1). Para ITS, *Allamanda* é grupo-irmão, mas com baixa sustentação (PP=0.49). O clado formado por *Himatanthus-Plumeria-Morotoniella* é fortemente sustentado por todos *cpDNA*, ITS e combinado (PP= 1), sendo *Himatanthus* grupo-irmão de *Mortoniella-Plumeria* (PP=1 para todos), e *Mortoniella* grupo-irmão de *Plumeria* (PP= 1 *cpDNA* e combinado; PP=0.98 ITS). **Analisando o clado II:** Na análise plastidial (*cpDNA*), *Skytanthus* e *Anechites* formam um clado com baixa sustentação (PP=0.57), sendo grupo-irmão do resto do clado II (PP=1). Já pela análise dos dados nucleares (ITS), *Anechites* aparece como grupo-irmão do resto do clado II (PP=0.81) e, *Skytanthus* com grupo-irmão de *Thevetia-Cameraria-Cerberiopsis-Cerbera* (PP=0.73), ambos com baixa sustentação. Mas, com os dados concatenados *Anechites* é grupo-irmão do resto de Thevetiinae (PP=1) e *Skytanthus* grupo-irmão de *Thevetia-Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis* (PP=0.90). O gênero *Thevetia* aparece fortemente sustentado com grupo-irmão de *Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis* (PP=1 *cpDNA* e combinado). Já para ITS, apesar de apresentar o mesmo resultado, apresenta baixa sustentação (PP=0.56 ITS). *Cameraria* aparece como grupo-irmão do clado *Cerbera-Cerberiopsis* (PP=0.93 concatenado, PP=0.88 *cpDNA*, e PP=0.48 ITS). *Cerberiopsis* e *Cerbera* estão proximamente relacionados com alto suporte (PP=1 *cpDNA* e combinado; PP=0.99 ITS). Todos os gêneros formam clados fortemente sustentados com probabilidade posterior (PP) igual a 1, exceto *Skytanthus*, sendo bem resolvidos até mesmo em nível de espécies, principalmente pela análise de dados combinados.

Análise de Máxima Parcimônia (MP)

Análise das árvores individuais de *cpDNA* total, *nrDNA* (ITS) e dados concatenados (*cpDNA/nrDNA*): Os dados concatenados (*cpDNA/nrDNA*) mostraram melhor resolução e maior sustentação tanto dos clados do grupo externo, que compõem

as tribos do grado rauvolfioide, quanto para Plumerieae, apresentando melhor resolução e melhor sustentação dos nós nesta análise combinada. As tribos Vinceae, Willughbeieae (BS=97%) e Tabernaemontaneae (BS=100%) juntas formam um clado (BS=56%). Melodineae, Alyxieae, Hunterieae, Carisseae (BS=100% respectivamente) e Plumerieae (BS=96%), estão bem resolvidos como tribos monofiléticas para dados concatenados (*cpDNA/nrDNA*). O grupo-irmão de Plumerieae e Carisseae é Hunterieae (BS=57% concatenado). Para ITS as tribos externas, com exceção de Aspidospermaeae e Alstonieae, formaram um grande clado, sem sustentação (BS<50%). Plumerieae é grupo-irmão de Carisseae (BS=100% *cpDNA*, BS=81% concatenado). A tribo Plumerieae é fortemente sustentada como grupo monofilética para *cpDNA* e concatenado (BS=100% e 98%, respectivamente). Para ITS não formou clado. Dentro de Plumerieae, dois grandes cladogramas foram observados (clado I e clado II). O **clado I**, compõe os gêneros das subtribos Allamandinae e Plumeriinae: *Allamanda*, *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, com forte sustentação para *cpDNA* e concatenado (BS=100% para ambos). Já para ITS, a sustentação foi baixa (BS=56%). O **clado II**, inclui os gêneros da subtribo Thevetiinae: *Anechites* (apenas para *cpDNA* e concatenado), *Cameraria*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia*, apresentando alta sustentação para *cpDNA* e concatenado (BS=100% e 96%, respectivamente), e baixa sustentação para ITS (BS=54%), excluindo *Anechites*. **Analizando o clado I:** O gênero *Allamanda*, aparece fortemente sustentando como grupo-irmão do clado formado por *Himatanthus-Mortoniella-Plumeria* (BS=100%, *cpDNA* e concatenado), e fracamente sustentado para ITS (BS=56%). O clado formado por *Himatanthus-Plumeria-Mortoniella* é fortemente sustentado pelo *cpDNA*, ITS e combinado (BS=99%, BS=100% e BS=100%, respectivamente), sendo *Himatanthus* grupo-irmão de *Mortoniella-Plumeria*, e *Mortoniella* fortemente sustentado como grupo-irmão de *Plumeria* para dados concatenados e *cpDNA* (BS= 100%). Para ITS a sustentação foi moderada (BS=78%). **Analizando o clado II:** *Skytanthus* e *Anechites* formam um clado com baixa sustentação na análise do *cpDNA* (BS=58%), sendo ambos o grupo-irmão do resto do clado II (BS=100 % *cpDNA*). Para os dados concatenados, *Skytanthus* aparece fortemente sustentado como grupo-irmão dos demais representantes de Thevetiinae (BS=96%), sendo *Anechites* grupo-irmão de *Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis-Thevetia*, com baixa sustentação (BS=52%). Já quando analisamos a filogenia baseada em dados nucleares, *Skytanthus* aparece como grupo-irmão de *Thevetia-Cameraria-Cerberiopsis-Cerbera*, também com baixa sustentação (BS=54%). *Anechites* aparece como grupo-irmão de todos os outros representantes de Plumerieae, sem

sustentação (BS<50%). Para *cpDNA* o gênero *Thevetia* é grupo-irmão de *Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis*, com sustentação baixa (BS=71%), sendo *Cameraria* grupo-irmão de *Cerbera-Cerberiopsis*, também fracamente sustentado (BS=61%). Já *Cerberiopsis* e *Cerbera* formam clado com alta para *cpDNA* (BS=100%). Na análise com marcadores nucleares e combinados, *Thevetia* forma clado com *Cameraria* (BS=100% combinado), porém o suporte para ITS é baixo (BS<50%), sendo ambos fracamente sustentados como grupo-irmão de *Cerberiopsis-Cerbera* (BS=56% combinado, ITS BS<50%). *Cerbera* e *Cerberiopsis* formam um clado fortemente sustentado para os dados concatenados (BS=100%), e fracamente sustentado para ITS (BS=56%). Todos os gêneros de *Plumerieae* formam clados fortemente sustentados com valor de *bootstrap* igual a 100%, exceto *Anechites*, *Plumeria* e *Skytanthus* (BS=90%, *cpDNA*).

DISCUSSÃO

Nossos resultados corroboram o monofiletismo de *Plumerieae* em sua circunscrição atual (Endress *et al.* 2014), sendo o primeiro estudo filogenético a incluir todos os dez gêneros de *Plumerieae* e uma amostragem substancial de espécies. Para todos os grupos os marcadores plastidiais concatenados com ITS apresentaram melhor resolução, principalmente pela Inferência Bayesiana. Isto se deve ao fato dos marcadores plastidiais possuírem maior sinal filogenético para grupos mais abrangentes, como tribos e gêneros, e os nucleares serem mais variados entre gêneros e espécies proximamente relacionadas. Acreditamos que a origem recente, com poucas diferenças moleculares entre as espécies pode explicar a politomia e baixa sustentação infragenérica, visto em *Himatanthus* para ITS, como sugerido por Spina (2003).

Os estudos filogenéticos, feitos para a família *Apocynaceae*, legitimaram a sua circunscrição como grupo monofilético, fortemente sustentado, promovendo várias mudanças na sua circunscrição interna, principalmente no grado *rauvolfioide*, mas permanecendo dúvidas das relações entre as tribos que são próximas à *Plumerieae*, por terem passado por grandes alterações em suas circunscrições no passado, como *Melodineae*, *Alyxieae*, *Carisseae* e *Hunterieae*, que ainda não estão totalmente esclarecidas (Judd *et al.* 1994, Endress *et al.* 1996, Sennblad & Bremer 1996, 2002, Endress & Bruyns 2000, Potgieter & Albert 2001, Simões *et al.* 2007, Simões *et al.* 2010, Simões *et al.* 2014, Simões *et al.* 2016 e Fishbein *et al.* 2018). No presente estudo, a tribo *Hunterieae* revela-se como grupo-irmão de *Plumerieae* e *Carisseae*, resolvendo incertezas de trabalhos moleculares anteriores, como Potgieter & Albert (2001), Sennblad & Bremer

(2002), Endress *et al.* (2007), Simões *et al.* (2007, 2010, 2016) e Fishbein *et al.* (2018). A proximidade filogenética entre Plumerieae e Carisseae, com Plumerieae como grupo irmão do clado formado por Carisseae e as demais subfamílias de Apocynaceae, é fortemente sustentada em nosso estudo. Este resultado já havia sido relatado em diversos estudos anteriores (Potgieter & Albert 2001, Sennblad & Bremer 2002, Livshultz *et al.* 2007, Simões *et al.* 2007, Fishbein *et al.* 2018), não remetendo qualquer dúvida destas relações tribais no grado rauvolfioide para futuros estudos.

Potgieter & Albert (2001), demonstraram que as classificações tradicionais de Plumerieae, não representavam um agrupamento monofilético, confirmando a delimitação proposta por Endress & Bruyns (2000) que propuseram mudanças significativas em “Plumerieae” (*sensu* Leeuwenberg 1994). As principais mudanças foram a transferência de diversos gêneros para outras tribos, como Alstonieae, Alyxieae e Vinceae, e incorporação de gêneros considerados estreitamente relacionados de outras tribos e subtribos como *Allamanda*, *Cerbera* e *Thevetia*. Em nossos resultados, a tribo é dividida em dois grandes clados fortemente sustentados, o primeiro composto pelos representantes das subtribos Plumeriinae (*Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*) e Allamandinae (*Allamanda*), e o outro formado pelos gêneros da subtribo Thevetiinae (*Anechites*, *Cameraria*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia*). As três subtribos de Plumerieae *sensu* Endress *et al.* (2014) são monofiléticas, sendo Allamandinae grupo irmão de Plumeriinae. *Allamanda* é o único gênero a compor Allamandinae, que devido as suas particularidades morfológicas (flores com anteras parcialmente férteis, ovário sincárpico, com placentação parietal e fruto capsular) foi mantido como grupo monogenérico por diversos autores, ora constituindo uma tribo, ora compondo uma subtribo monogenérica (Pichon 1948a, 1948b, 1949, 1950b, Allorge *et al.* 1981, Fallen 1986, Leeuwenberg 1994 e Endress *et al.* 2014).

O relacionamento entre Allamandinae e Plumeriinae, observada em nosso estudo, já havia sido relatada em estudos anteriores (Potgieter & Albert 2001, Sennblad & Bremer 2002, Livshultz *et al.* 2007 e Simões *et al.* 2007), nos quais *Allamanda* era fortemente sustentada como gênero irmão de *Himatanthus* e *Plumeria* do grado rauvolfioide. Este resultado, no entanto, contraria a hipótese de Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007). Estes autores, em estudo filogenético focado no complexo *Cascabela-Thevetia*, reportaram *Allamanda* como grupo irmão de Thevetiinae, com base em dados morfológicos. Como possíveis sinapomorfias deste clado, Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007) citam o prolongamento do conectivo em formato deltoide, a presença

de apêndices infraestaminais e a cabeça do estilete em formato de carretel com um anel basal espessado. Mesmo *Allamanda* formando um clado com Plumeriinae, optamos por manter o status de subtribo Allamandinae sensu Endress *et al.* (2014) pela presença de caracteres exclusivos e não compartilhados com as outras subtribos, e pela ausência de sinapomorfias morfológicas compartilhadas com *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*. As características morfológicas destacadas por Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007), compartilhadas entre *Allamanda* e Thevetiinae podem representar sinapomorfias para a tribo Plumerieae, sendo posteriormente perdidas em Plumeriinae, hipótese esta a ser devidamente testada em estudos futuros.

As relações entre os gêneros de Plumeriinae são bem estabelecidas, tanto pelo compartilhamento de características morfológicas comuns entre seus gêneros, que fizeram Pichon (1948, 1950), Leeuwenberg (1994) e Endress & Bruyns (2000) posicioná-los na mesma subtribo (Plumeriinae), quanto por dados moleculares (Potgieter & Albert 2001, Spina 2003 e Livshultz *et al.* 2007). Ao contrário do que acontece com *Allamanda*, que possui características únicas, difícil de ser confundido com outros representantes de Plumerieae, Plumeriinae apresenta uma combinação de caracteres morfológicos compartilhada no grado rauvolfioide. Os seus três gêneros possuem folhas de filotaxia alterna, flores com corola hipocrateriforme, branca, estames sem apêndices, anteras não lignificadas e com tecas introrsas, cabeça do estilete morfológicamente simples e frutos foliculares com sementes aladas. Porém, Plumeriinae apresenta uma condição rara na subfamília, o ovário semi-ínfero. O status de *Mortoniella*, gênero proposto por Woodson (1936), tem gerado algumas dúvidas sobre se realmente é um gênero monoespecífico ou deveria ser incluído na sinonímia de *Plumeria*. Os nossos resultados mostram que *Mortoniella* e *Plumeria* formam um clado bem definido com alto valor de sustentação, sendo *Mortoniella* irmão das espécies amostradas de *Plumeria*, e que *Himatanthus* é o grupo irmão de *Mortoniella-Plumeria*. Esta hipótese filogenética discorda do resultado de Spina (2003) que observou, em seu estudo filogenético do gênero *Himatanthus*, com base em dados moleculares de ITS, *Mortoniella* como grupo irmão de *Himatanthus*, e que *Plumeria* seria o grupo irmão destes dois clados. Esta contradição com nossos resultados se deve, principalmente, pela baixa sustentação do clado formado entre *Mortoniella* e *Himatanthus* gerado naquele estudo, assim como também a baixa inserção de espécies que representam o grupo externo, diferentemente dos nossos resultados, que são providos de maiores sustentações dos clados e mais robusto em número de espécies. O posicionamento de *Mortoniella* em nosso trabalho permite tanto mantê-lo como um

gênero distinto, ou transferi-lo para a sinonímia de *Plumeria*. Optamos por manter o status genérico de *Mortoniella*, uma vez que o táxon exhibe algumas diferenças morfológicas em relação aos demais representantes de *Plumeria*, como as sépalas ovadas, apresentando tricomas no seu ápice, com coléteres calicinais apenas na porção adaxial das lacínias, anteras que não tocam a cabeça do estilete e cabeça do estilete ovoide, com apêndices apicais portando tricomas.

O clado 2 corresponde a subtribo Thevetiinae (Alvarado-Cárdenas & Ochoterena 2007 e Endress *et al.* 2014), sendo constituído pelos gêneros com maior complexidade morfológica da tribo Plumerieae e no grado rauvolfioide, especialmente quanto à estrutura floral. Os gêneros da subtribo possuem flores vistosas, com estames portando conectivos prolongados e apêndices apicais, anteras com deiscência latrorsa, e cabeça do estilete elaborada, com anel basal espessado e projeções lobadas no ápice. As relações entre seus representantes foram bastante questionadas em classificações anteriores. Pichon (1948b, 1949 e 1950) segregou os representantes desta subtribo em duas subfamílias, Cerberoideae e Plumerioideae, diagnosticadas, em parte, pela morfologia floral. Cerberoideae possui apêndices supra e infraestaminais, anteras latrorsas com apêndices filiformes apicais, e estilete com espessamento obcônico apical, enquanto as flores de Plumerioideae não possuem apêndices nos estames, as anteras são introrsas e o estilete não é espessado apicalmente. Para este autor, *Cameraria*, *Cerbera*, *Ceriopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia* compunham Cerberoideae, enquanto *Allamanda*, *Anechites*, *Himatanthus* e *Plumeria* estavam incluídos em Plumerioideae. *Allamanda* era o único gênero da tribo Allamandaeae, diagnosticado pelas anteras lignificadas, ovário sincárpico e fruto capsular, enquanto *Himatanthus* e *Plumeria* faziam parte da tribo Alstonieae, subtribo Plumerineae, caracterizada pelos frutos deiscentes com sementes aladas. *Anechites*, por sua vez, foi incluído na tribo Rauvolfieae sem posicionamento em subtribo, pelos frutos pilosos e supostamente indeiscentes. Leeuwenberg (1994) não reconheceu o status de subfamília para Cerberoideae, transferindo todos os seus gêneros para uma subtribo de Plumerioideae, denominada Cerbereae. *Himatanthus* e *Plumeria* foram mantidos em Plumerineae, com o acréscimo de *Mortoniella*, *Allamanda* foi mantida em Allamandaeae, e *Anechites* transferido para Alyxieae. Apesar das diferenças nas classificações de Pichon e Leeuwenberg, ambos os autores já apontavam a proximidade entre alguns gêneros das atuais Thevetiinae. *Thevetia*, *Cameraria*, *Cerbera* e *Cerberiopsis* foram sempre mantidos na mesma tribo ou subfamília, mas apenas os três últimos gêneros faziam parte da mesma subtribo (Camerariinae), com *Thevetia* mantida

em Thevetiinae. Leeuwenberg (1994) considerou que *Skytanthus* também apresentava similaridades com os gêneros citados acima, e por isso, diferentemente de Pichon (1948a, b e c, 1950), transferiu para a mesma tribo dos demais gêneros. Por outro lado, ambos os autores concordaram que *Anechites* não estava proximamente relacionado com aqueles gêneros, mantendo-o em uma tribo distinta. Este posicionamento deve-se provavelmente ao reduzido número de materiais herborizados examinados por esses autores e pela morfologia peculiar do fruto (mericarpos indeiscentes, com 1 semente cada), similar ao observado em gêneros de Alyxieae, como *Condylocarpon*.

Fallen (1983), em revisão taxonômica de *Anechites*, já havia sugerido que *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Thevetia* estariam mais proximamente relacionados com *Anechites*, *Cameraria* e *Skytanthus* do que com gêneros de Alyxieae. Da mesma forma, Potgieter & Albert (2001), também identificaram uma proximidade entre *Skytanthus*, *Thevetia*, *Cerbera* e *Cerberiopsis*, assim como Sennblad & Bremer (2002), que aludiram proximidade entre *Cameraria*, *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Anechites*. Contudo, várias lacunas permaneceram para uma melhor definição das relações filogenéticas entre estes gêneros, uma vez que nem todos os gêneros de Thevetiinae foram amostrados nestes estudos filogenéticos. No trabalho de Alvarado-Cádenas & Ochoterena (2007) o posicionamento de *Skytanthus* como gênero irmão dos demais, e a politomia entre *Anechites*-*Cameraria*-*Thevetia* e o clado *Cerbera*-*Cerberiopsis*, pela reconstrução filogenética baseada em dados exclusivamente morfológicos, é um exemplo da dificuldade de elucidar relações de proximidade entre seus representantes. Nossos resultados sugerem que *Anechites* é grupo irmão dos demais representantes de Thevetiinae, e *Skytanthus* grupo irmão de *Thevetia*-*Cameraria*-*Cerbera*-*Cerberiopsis*. Estes dois gêneros, *Anechites* e *Skytanthus*, eram o que mais apresentavam problemas para delimitar as relações dentro de Thevetiinae. Mesmo em nossas análises isso foi constatado, pois haviam resultados que mostravam *Anechites* e *Skytanthus* formando um clado, porém com baixa sustentação. *Thevetia* e *Cerbera* tiveram uma história taxonômica muito confusa e complexa, com recombinações entre as espécies de um gênero para o outro ou mesmo para um terceiro gênero, mas ao longo da história taxonômica voltaram a compor os grupos hoje conhecidos. Esses problemas vêm do fato desses grupos apresentarem muitas características morfológicas compartilhadas, como visto em Plumeriinae. Contudo, mesmo depois da consolidação desses dois gêneros, *Thevetia* ainda tem gerado algumas discussões por diferentes autores, que sugerem a separação em dois distintos gêneros, *Thevetia* e *Cascabela* (Bochmer 1760, Miller 1754,

Woodson 1937, Gensel 1969, Lippold 1980, Alvarado-Cárdenas & Ochoterena 2007, Morales 2005). Em nossos resultados *Thevetia* é grupo irmão de *Cameraria-Cerbera-Cerberiopsis*, que pode constituir um único gênero ou ser separada em *Thevetia* e *Cascabela*, pois formou dois clados entre as espécies que são sugeridas como gêneros distintos. Nós preferimos manter todos como *Thevetia*, como proposto por Endress *et al.* (2014), para não tomarmos uma decisão precipitada, uma vez não incluímos todos os representantes deste gênero na filogenia. *Cameraria* é grupo irmão do clado formado por *Cerbera* e *Cerberiopsis*, como proposto por Pichon (1948) e Leeuwenberg (1994), que incluíram todos na mesma subtribo Camerariinae, mas divergindo do resultado de Sennblad & Bremer (2002) que propuseram *Cameraria* como grupo irmão de *Cerbera*, *Thevetia* e *Anechites*. O clado formado por *Cerbera* e *Cerberiopsis* já era proposto por Potgieter & Albert (2001), Alvarado-Cárdenas & Ochoterena 2007 e por Simões *et al.* (2007) e bem sustentado em estudos taxonômicos e morfológicos, tanto que o próprio nome *Cerberiopsis* significa "similar a *Cerbera*".

CONCLUSÃO

Com a primeira filogenia molecular abrangente de Plumerieae, incluindo representantes de todos os gêneros constituintes, usando caracteres moleculares plastidiais e nucleares ribossomais, o monofiletismo da tribo e de seus gêneros foi corroborado. É confirmada a relação de proximidade com Hunterieae, sendo Carisseae e o clado APSA (demais subfamílias de Apocynaceae) o grupo irmão. Em nosso estudo, Plumerieae é dividida em dois grandes clados, o primeiro formado por representantes das subtribos Plumeriinae e Allamandinae, e o segundo por representantes de Thevetiinae. *Allamanda* é grupo-irmão de Plumeriinae, sendo *Mortoniella* mantido como gênero e proximamente relacionado à *Plumeria*. *Anechites* é grupo irmão dos demais representantes de Thevetiinae, sendo *Skytanthus* grupo irmão de *Thevetia*, *Cameraria*, *Cerberiopsis* e *Cerbera*. O gênero *Thevetia* é grupo irmão de *Cameraria*, *Cerberiopsis* e *Cerbera*, sendo *Cameraria* irmã do clado *Cerbera* e *Cerberiopsis*. Mesmo mostrando que a tribo Plumerieae tem suas relações filogenéticas altamente esclarecidas, ainda há alguns objetivos a serem alcançados, especialmente a inclusão de todas espécies de *Thevetia* para averiguar se estas espécies se sustentam como um único clado, como proposto por Endress *et al.* (2014), ou se dividem em dois clados distintos: *Thevetia* e *Cascabela*, como proposto por Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007). Assim como construir as relações

filogenéticas entre todas espécies que pertencem a cada gênero, já que a tribo é relativamente pequena, compondo aproximadamente 53 espécies. A filogenia aqui obtida pode servir como base para estudos futuros focados na história biogeográfica do grupo, e na análise de tendências evolutivas e evolução de caracteres na tribo.

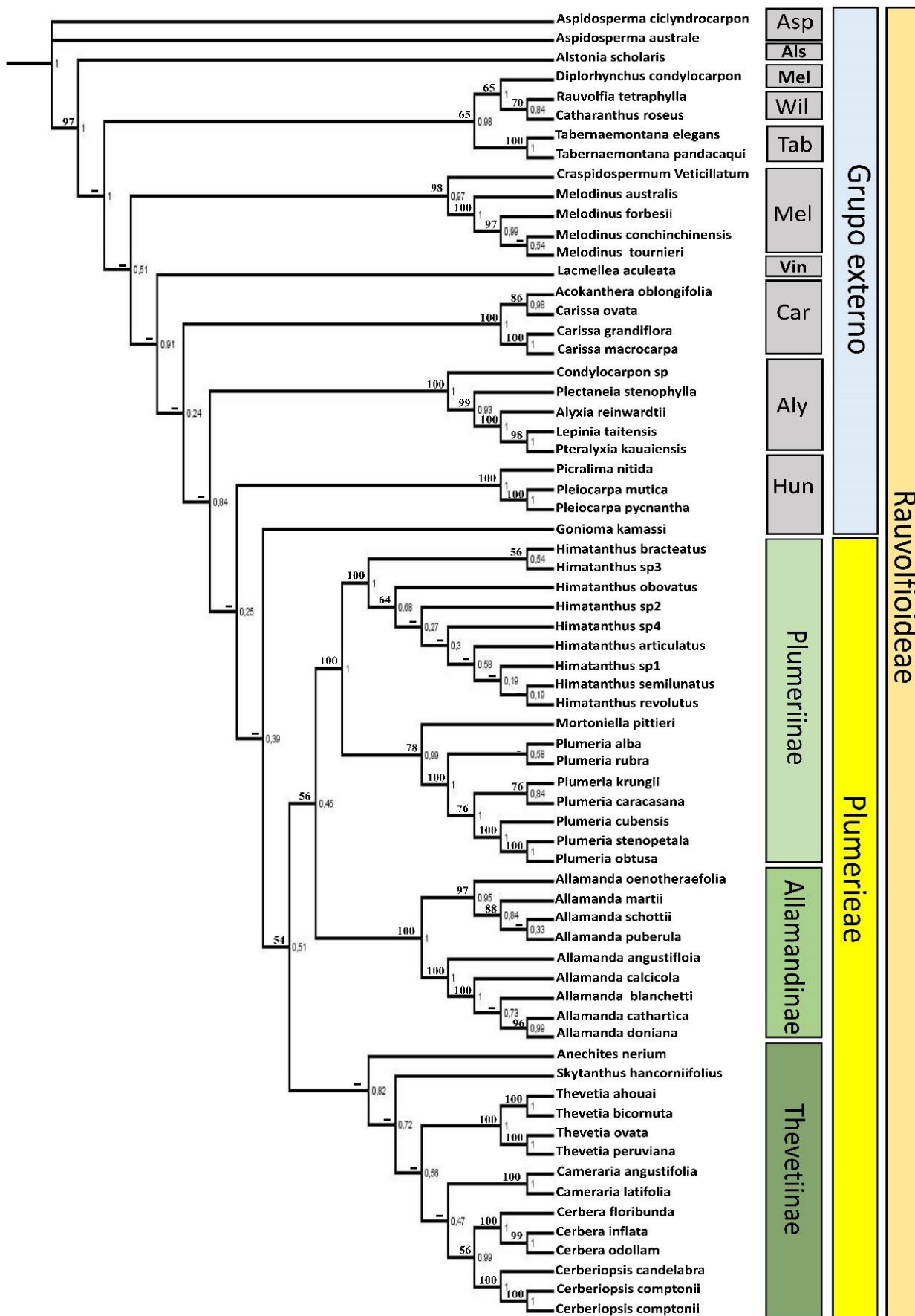


Figura 1: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB do conjunto de dados moleculares combinados de ITS. As probabilidades posteriores (PP) estão indicadas a direita de cada ramo. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados a esquerda de cada ramo; (-) ramos com BS inferior a 50%. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1. Os clados identificados estão abreviados: Asp= Aspidospermaeae; Als= Alstonieae; Vin= Vinceae; Wil= Willughbeieae; Tab= Tabernaemontaneae; Mel= Melodineae; Aly= Alyxieae; Hun= Hunterieae; Car= Carisseae.

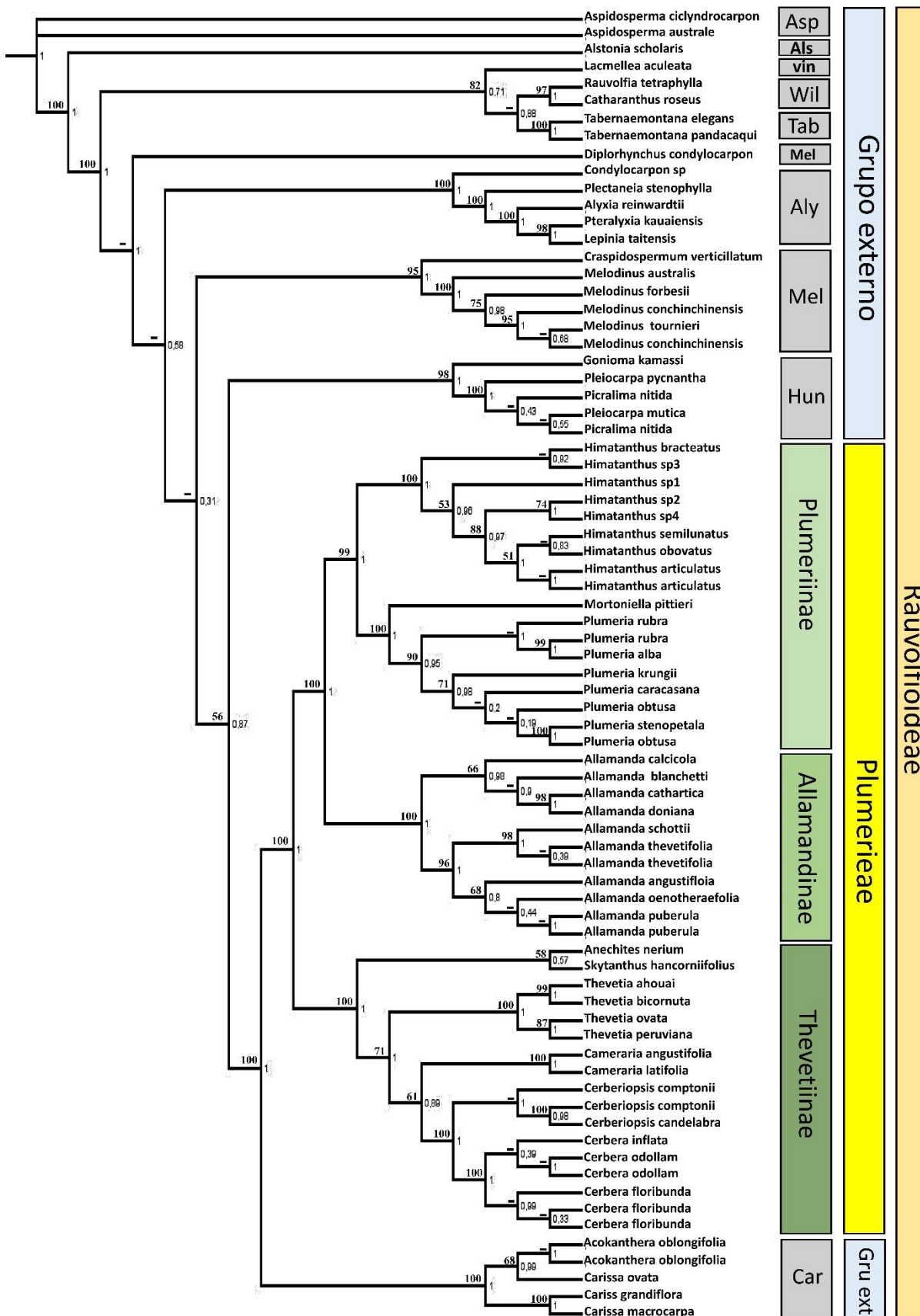


Figura 2: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB do conjunto de dados moleculares de todos os marcadores plastidiais combinados. As probabilidades posteriores (PP) estão indicadas a direita de cada ramo. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados a esquerda de cada ramo; (-) ramos com BS inferior a 50%. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

Os clados identificados estão abreviados: Asp= Aspidospermaeae; Als= Alstonieae; Vin= Vinceae; Wil= Willughbeieae; Tab= Tabernaemontaneae; Mel= Melodineae; Aly= Alyxieae; Hun= Hunterieae; Car= Carisseae; grup ext= Grupo externo.

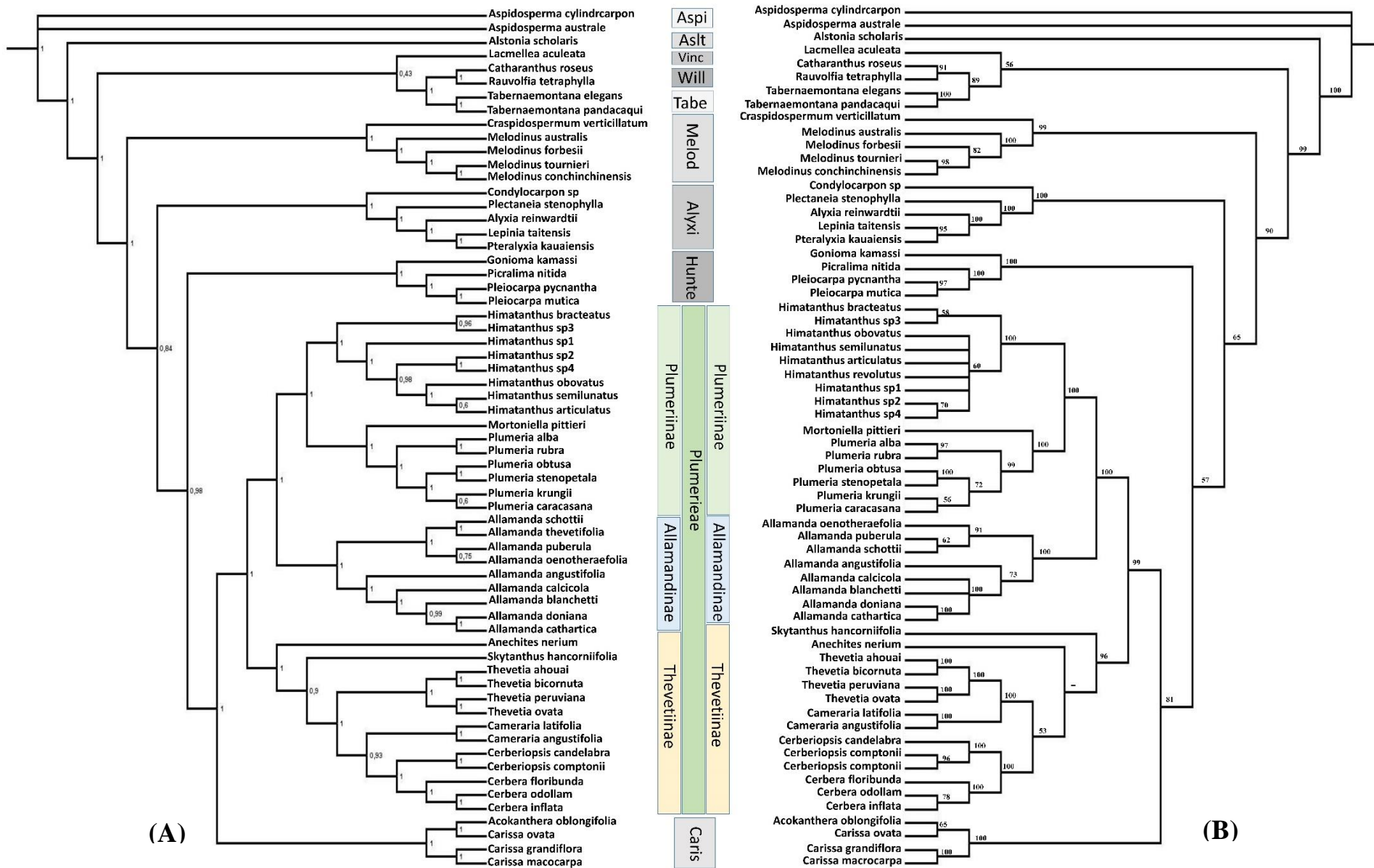


Figura 3: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB (A) e árvore de consenso da análise de MP (B) do conjunto de dados moleculares combinados (cpDNA/nrDNA). As probabilidades posteriores (PP) e o suporte de bootstrap (BS) estão indicados em cada ramo. BS inferior a 50% é indicado por um traço (-). Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1. Os clados identificados estão abreviados: Aspi= Aspidospermaeae; Alst= Alstonieae; Vinc= Vinceae; Will= Willughbeieae; Tabe= Tabernaemontaneae; Melod= Melodineae; Alyxi= Alyxieae; Hunte= Hunterieae; Caris= Carisseae

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADANSON, M. 1768.** Familles des plantes. Reimp. 1966. Introdução de F.A. Stafleu. Ed. Lehre, Paris.
- AGRA M. F., BARACHO G. S., NURIT K., BASÍLIO I. J. L. D., COELHO V. P. M. 2007b.** Medicinal and poisonous diversity of the flora of "Cariri Paraibano", Brazil. J Ethnopharmacol 111: 383-395.
- ALLORGE, L. 1976.** Morphologie et biologie florale des Apocynacées: Aplications taxonomiques. PhD diss. École pratique des Hautes Etudes, Paris.
- ALLORGE, L. HUSSON, H. P. & SASTRE, C. 1981.** Morphologie et chimiotaxomie des Apocynacées. Conclusions phylogenetiques et biogeographiques. C. R. Biogeogr. 57(3): 112-126
- AUBLET, M. 1775.** Histoire des Plant de la Guiane Française. 1: 277; Table des Noms. Latins 3. Paris
- ALVARADO-CÁRDENAS, L. O. & OCHOTERENA, H. 2007.** A phylogenetic analysis of the Cascabela–Thevetia species complex (Plumerieae, Apocynaceae) based on morphology. Annals of the Missouri Botanical Garden 94: 298-323.
- ALVARADO-CÁRDENAS, L. O. VILLASEÑOR, J. L. LÓPEZ-MATA, L. CADENA, J. & ORTIZ, E. 2017.** Systematics, distribution and conservation of *Cascabela* (Apocynaceae: Rauvolfioideae: Plumerieae) in Mexico. Plant Systematics and Evolution 303 (3): 337-369.
- CANDOLLE, A. P. DE 1844.** Ordo CXXIX. Apocynaceae. - In Candolle, A. E. DE, (Ed.): Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis, Paris: Fortin, Masson 317-489.
- BANDARA, V. WEINSTEIN, S. A. WHITE J. & EDDLESTON, M. 2010.** A review of the natural history, toxinology, diagnosis and clinical management of *Nerium oleander* (common oleander) and *Thevetia peruviana* (yellow oleander) poisoning. Toxicon 56: 273-281.
- ENDRESS, P. K. 1994.** Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. Plant Systematic and Evolution 192: 79-97.
- ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P. 2000.** A revised classification of Apocynaceae s.l. Botanical Review 66: 1-56.

- ENDRESS, M.E. LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2007.** Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 259- 267.
- ENDRESS, M.E. LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2014.** An updated classification for Apocynaceae. *Fitotaxa* 159 (3): 175-194.
- FALLEN, M. E. 1983.** A systematic revision of *Anechites* (Apocynaceae). *Brittonia*, 35:222-231.
- FALLEN, M. E. 1985.** The gynoecial development and systematic position of *Allamanda* (Apocynaceae). *American Journal of Botany* 72: 572-579.
- FISHBEIN, M. LIVSHULTZ, T. STRAUB, S. C. K. SIMÕES, A. O. BOUTTE, J. MCDONNELL, A. & FOOTE, A. 2018.** Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits. *American Journal of Botany* 105(3): 1-19.
- GAILLARD, Y. KRISHNAMOORTHY, A. BEVALOT, F. 2004.** *Cerbera odollam*: a ‘Suicide tree’ and cause of death in the State of Kerala, India. *Journal of Ethnopharmacology* 95:123-126.
- GENSEL, W. H. 1969.** A revision of the genus *Thevetia* (Apocynaceae). Master thesis. University of Connecticut [University Microfilms International, Ann. Arbor.].
- GUPTA M., MAZUMDER, U. K., GOMATHI, P. & SELVAN V. T. 2006.** Antiinflammatory evaluation of leaves of *Plumeria acuminata*. The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research (ISCMR) 6:36.
- HAMBURGER, M. O. CORDELL, G. A. & RUANGRUNGSI, N. 1991.** Traditional medicinal plants of Thailand XVII Biologically active constituents of *Plumeria rubra*. *Journal of Ethnopharmacology* 33: 289-292.
- LEEUWENBERG, A. J. B. 1994a.** Taxa of the Apocynaceae above the genus level. Series of revisions of Apocynaceae. XXXVIII. Wageningen Agric. Univ. Pap. 94(3): 45-60.
- LIEDE-SCHUMANN, S. & TÄUBER, A. 2002.** Circumscription of the genus *Cynanchum* (Apocynaceae–Asclepiadoideae). *Systematic Botany* 27: 789-800.
- LIEDE-SCHUMANN S. RAPINI, A. GOYDER, D. J. & CHASE M.W. 2005.** Phylogenetics of the new world subtribes of *Asclepiadeae* (Apocynaceae Asclepiadoideae): Metastelmatinae, oxypetalinae, and Gonolobinae. *Systematic Botany* 30(1): 184-195.

- LIPPOLD, H. 1980.** Die gattungen *Thevetia* L., *Cerbera* L. und *Cascabela* Rafin. (Apocynaceae). Feddes Repert. 91: 45-55.
- LIVSHULTZ, T. MIDDLETON, D. J. ENDRESS, M. E. & WILLIAMS, J. K. 2007.** Phylogeny of Apocynoideae and the APSA clade (Apocynaceae s.l.). Annals of the Missouri Botanical Garden 94: 324-359.
- MILLER, P. 1754.** The Gardeners Dictionary, abridged, 4th ed. London.
- MORALES, J. F. 2005.** Estudios en las Apocynaceae neotropicales XIX: La familia Apocynaceae s. str. (Apocynoideae, Rauvolfioideae) de Costa Rica. Darwiniana 43: 90-191.
- NASCIMENTO, D. S. S. & COELHO, A. A. O. P. 2016.** Plantas ornamentais da família Apocynaceae Juss. no jardim do Campus II da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Alagoinhas, Bahia. <http://dx.doi.org/10.21472/congrebio2016.et-09-005>.
- PICHON, M. 1948a.** Classification des Apocynacées: I. Carissées et Ambelaniées. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique 24: 111-181.
- PICHON, M. 1948b.** Classification des Apocynacées: V, Cerbéroidees. Notulae Systematicae, Herbarium du Muséum de Paris, Phanérogamie 13: 212-229.
- PICHON, M. 1949.** Classification des Apocynacées: IX. Rauvolfiées, Alstoniées, Allamandées et Tabernaémontanées. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique 24: 153-251.
- PICHON, M. 1950.** Classification des Apocynacées: XXVIII, Supplément aux Plumérioidées. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique, 1: 145-166.
- POTGIETER, K. & ALBERT, V. A. 2001.** Phylogenetic relationships within Apocynaceae s.l. based on *trnL* intron and *trnL-F* spacer sequences and propagule characters. Annals of the Missouri Botanical Garden 88: 523-549.
- SALINAS, P. J. 2010.** Plantas tóxicas comunes en el estado Mérida, Venezuela. Primera Parte. Anacardiaceae, Apocynaceae, Asclepiadaceae. MedULA 19:59-68.
- SCHUMANN, K. 1895.** Apocynaceae. In: Engler, A e Prantl, L. (ed) Die natürlichen Pflanzenfamilien. Leipzig, Wilhelm Engelmann 4(2): 109-189.
- SENNBLAD, B. & BREMER, B. 1996.** The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with *rbcL* data. Plant Systematics and Evolution 202: 153-175.

- SENBLAD, B. & BREMER, B. 2002.** Classification of Apocynaceae s.l. according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. *Systematic Biology* 51: 389-409.
- SIMÕES, A. O. LIVSHULTZ, T. CONTI, E. & ENDRESS, M. E. 2007.** Phylogenetic and systematics of the Raulvolfoideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 268-297.
- SIMÕES, A. O. ENDRESS M. E. & CONTI E. 2010.** Systematics and character evolution of Tabernaemontaneae (Apocynaceae, Rauvolfoideae) based on molecular and morphological evidence. *TAXON* 59 (3): 772-790.
- SIMÕES, A. O. KINOSHITA, L. S. KOCH, I. SILVA M. J. & ENDRESS M. E. 2016.** Systematics and character evolution of Vinceae (Apocynaceae). *TAXON* 65 (1): 99-122.
- SPINA, A. P. 2003.** Análise Filogenética do gênero *Himatanthus* Willd. ex Shult. Baseado em dados morfológicos e na sequência do espaçador interno transcrito (ITS) do DNA nuclear ribossomal. (Tese de Doutorado). Unicamp.
- WANNTORP, L. KOCYAN, A. VAN DONKELAAR, R. & RENNER, S. S. 2006.** Towards a monophyletic *Hoya* (Marsdenieae, Apocynaceae): Inferences from the chloroplast *trnL* region and the *rbcL-atpB* spacer. *Systematic Botany* 31(3): 586-596
- WOODSON, R. E. 1930.** Studies in the Apocynaceae. I. A critical study of the Apocynoideae (with special reference to the genus *Apocynum*). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 17: 1-212.
- WOODSON JR, R. E. 1937.** New or Otherwise Noteworthy Apocynaceae of Tropical America. V. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 25: 189-224.
- WOODSON JR, R. E. 1938a.** Studies in the Apocynaceae. VII. An evaluation of the genera *Plumeria* L. and *Himatanthus* Willd. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 24: 11-16.
- WOODSON, R. E. 1939.** New or Otherwise Noteworthy Apocynaceae of Tropical America. VII. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 26: 257-259.

Apêndice 1. Táxons analisados, indicando a tribo, espécies e informações de vouchers para os conjuntos de dados moleculares (cpDNA e nrDNA).

Tribo	Táxons	Coleção
Plumerieae	<i>Allamanda angustifolia</i> Pohl	GO, Alto Paraíso, AO Simões s.n. (UEC)
Plumerieae	<i>Allamanda calcicola</i> Souza-Silva & Rapini	BA, Souza-Silva, R.F. 302 (MBM)
Plumerieae	<i>Allamanda blanchetii</i> A.DC	SP, Campinas, cult., Gomes, S.M. 487 (UEC)
Plumerieae	<i>Allamanda cathartica</i> L.	PA, Ilha de Marajó, Viana 52 (MG)
Plumerieae	<i>Allamanda doniana</i> Mull. Arg.	RR, Boa Vista, 14/XII/2012, A.O. Simões s.n. (MIRR)
Plumerieae	<i>Allamanda martii</i> Müll. Arg.	Hoffmann, W.A. 166 (UEC)
Plumerieae	<i>Allamanda oenotheriefolia</i> Polh	Martins, M.V. 280 (UEC)
Plumerieae	<i>Allamanda puberula</i> A.DC.	Kotovski, E.R. 55 (UEC)
Plumerieae	<i>Allamanda schottii</i> Pohl	Kotovski, E.R. 1 (UEC)
Plumerieae	<i>Anechites nerium</i> (Aubl.) Urb.	E.L. Eleman 14563
Plumerieae	<i>Cameraria angustifolia</i> L.	P.S.M.M. 6423(L)
Plumerieae	<i>Cameraria latifolia</i> L.	cult., Fairchild Botanical Garden, unvouchered
Plumerieae	<i>Cerbera floribunda</i> K. Schum.	A. D. Weilben wp4c0923 (L)
Plumerieae	<i>Cerbera inflata</i> (S.T. Blake) S.T. Blake	A. Stocher 673 (L)
Plumerieae	<i>Cerbera odollam</i> Gaertn.	Pillon 593 (L)
Plumerieae	<i>Cerbera odollam</i> Gaertn.	14488 (L)
Plumerieae	<i>Cerberiopsis candelabra</i> Vieill. ex Pancher & Sebert	Cult., Bot Gard Zurich, unvouchered
Plumerieae	<i>Cerberiopsis comptonii</i> (S. Moore) Guillaumin	L. B. 12546 (L)

Plumerieae	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	ix/2008
Plumerieae	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	AM, Manaus, reserva Ducke, A.O. Simões s.n. (INPA, UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus attenuatus</i> (Vahl) Woodson	Benson, W.W. 11396 (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus bracteatus</i> (A. DC.) Woodson	Folli, D.A. 2369 (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel	Nunes, E. s.n. (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus phagedaenicus</i> (Mart.) Woodson	Spina 480 (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.) Woodson	Pinto, J.M. 004 (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus revolutus</i> (Huber) Spina & L. Kinoshita	Brasil, Spina, A.P. 482 (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus</i> sp1	RR, Boa Vista (em mata), A.O. Simões s.n. (MIRR)
Plumerieae	<i>Himatanthus</i> sp2	PA, Ilha de Marajó, Viana 91 (MG)
Plumerieae	<i>Himatanthus</i> sp3	BA, Lençóis AO Simões 1136 (UEC)
Plumerieae	<i>Himatanthus</i> sp4	BA, Arapiranga, AO Simões 1072 (UEC)
Plumerieae	<i>Mortoniella pittieri</i> Woodson	Costa Rica 11/04/2010. J.F. Morales s.n. (INB)
Plumerieae	<i>Plumeria alba</i> L.	Brasil, cult., Gomes, S.M. 653 (UEC)
Plumerieae	<i>Plumeria caracasana</i> J.R. Johnst.	Cuba, NTBG 990058-001 (NY)
Plumerieae	<i>Plumeria cubensis</i> L.	Cuba, NTBG 860059003 (NY)
Plumerieae	<i>Plumeria krungii</i> Urb.	Cuba, M. Nee 44142 (L)
Plumerieae	<i>Plumeria obtusa</i> L.	Cuba, P.J.M.M. 8385 (L)
Plumerieae	<i>Plumeria rubra</i> L.	Costa Rica, 05/04/2010, J.F. Morales s.n. (INB)
Plumerieae	<i>Plumeria rubra</i> L.	cult. em frente ao Inst. de Educação, Unicamp, SP.
Plumerieae	<i>Plumeria stenopetala</i> Urb.	Cuba, P.J.M.M. 8379 (L)

Plumerieae	<i>Skytanthus hancorniiifolius</i> (A.DC.) Miers	Santos, K.; Monge, M.; Shimizu, G.H.; Jönnson, K. 4745 (UEC)
Plumerieae	<i>Thevetia ahouai</i> (L.) A. DC.	cult. em frente Inst. Biol. Vegetal, Unicamp, Campinas SP.
Plumerieae	<i>Thevetia bicornuta</i> Müll. Arg.	Heringer, E.P.; et al. 845 (UEC)
Plumerieae	<i>Thevetia ovata</i> (Cav.) A. DC	México NTBG 10/VIII/2013
Plumerieae	<i>Thevetia peruviana</i> K. Schum.	Gomes, S.M. 486 (UEC)
Alyxieae	<i>Alyxia reinwardtii</i> Blume	Tailândia, D.J. Middleton 172 (A)
Alyxieae	<i>Condylocarpon isthmicum</i> Desf.	Cavalcanti 2056 (UEC)
Alyxieae	<i>Lepinia taitensis</i> Decne.	Taiti, Perlman 15071 (NY)
Alyxieae	<i>Plectaneia stenophylla</i> Jum.	Madagascar, Petignat s.n. (Z)
Alyxieae	<i>Pteralyxia kauaiensis</i> Caum.	Havaí, Lorence 7768 (PTBG, Z)
Carisseae	<i>Acokanthera oblongifolia</i> (Hochst.) Benth. & Hook. f. ex B.D. Jacks.	Cult., Meise Botanical Garden, acc. Number s1-4639 (BR)
Carisseae	<i>Carissa grandiflora</i> (E. Mey.) A. DC.	Cult., Gomes, S.M. 566 (UEC)
Carisseae	<i>Carissa macrocarpa</i> (Eckl.) A. DC.	Cult., Bertoni, J.E.A. 688 (UEC)
Carisseae	<i>Carissa ovata</i> R. Br.	Australia, P.I. Forster 28689 (PRI)
Hunterieae	<i>Gonioma kamassi</i> E. Mey.	South Africa, T. Abbott 7713 (PRU, Z)
Hunterieae	<i>Picalima nitida</i> (Stapf) T. Durand & H. Durand	Cult. Meise Botanical Garden, acc. Number 860334 (BR)
Hunterieae	<i>Pleiocarpa mutica</i> Benth	Cult. Meise Botanical Garden, acc. Number 610253 (BR)
Hunterieae	<i>Pleiocarpa pycnantha</i> (K. Schum.) Stapf	Cult. Meise Botanical Garden, acc. Number 005302 (BR)
Melodineae	<i>Craspidospermum verticillatus</i> Bojer ex A. DC	Madagascar, J. Schonenberger D36 (UPS)
Melodineae	<i>Diphorhynchus condylocarpon</i> (mull.Arg) Pichon	South Africa, 21/IV/2000, E. Schmidt s.n. (PRU)

Melodineae	<i>Melodinus australis</i> (F. Muell.) Pierre	Australia, P. I. Forster 27503 (PRI)
Melodineae	<i>Melodinus cochinchinensis</i> (Lour.) Merr.	Cult., Meise Botanical Garden, F. Billet S3441 (BR)
Melodineae	<i>Melodinus forbesii</i> Fawcett	TA e A 15633
Melodineae	<i>Melodinus tournieri</i> Pierre ex Spire	Cult., Meise Botanical Garden, acc. Number xxxx (BR)
Aspidospermeae	<i>Aspidosperma cylindrocarpon</i> Müll.Arg.	Brasil, Campinas, A.O. Simões 1328 (UEC)
Aspidospermeae	<i>Aspidosperma austral</i> Müll.Arg.	Brasil, MG, Santana do Riacho, L.S. Kinoshita 02/110 (UEC)
Alstonieae	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.	Indonesia, Sabah, S.J. Davies SJD99150 (A)
Tabernaemontaneae	<i>Tabernaemontana elegans</i> Stapf	South Africa, S. Liede 636 (MSUN, UBT)
Tabernaemontaneae	<i>Tabernaemontana pandacqui</i> Lam.	Cult. Holanda, Meise Botanical Garden, acc. Number 78PTHB349, unvouchered
Vinceae	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G.Don	Cult. Brasil, Campinas, A.O. Simões 1329 (UEC)
Vinceae	<i>Rauvolfia tetraphylla</i> L.	Equador, Josse 793 (A, Z)
Willughbeae	<i>Lacmellea aculeate</i> (Ducke) Monach.	Guiana Francesa, M. F. Prévost 3803 (CAY)

ÁRVORES FILOGENÉTICAS SUPLEMENTARES

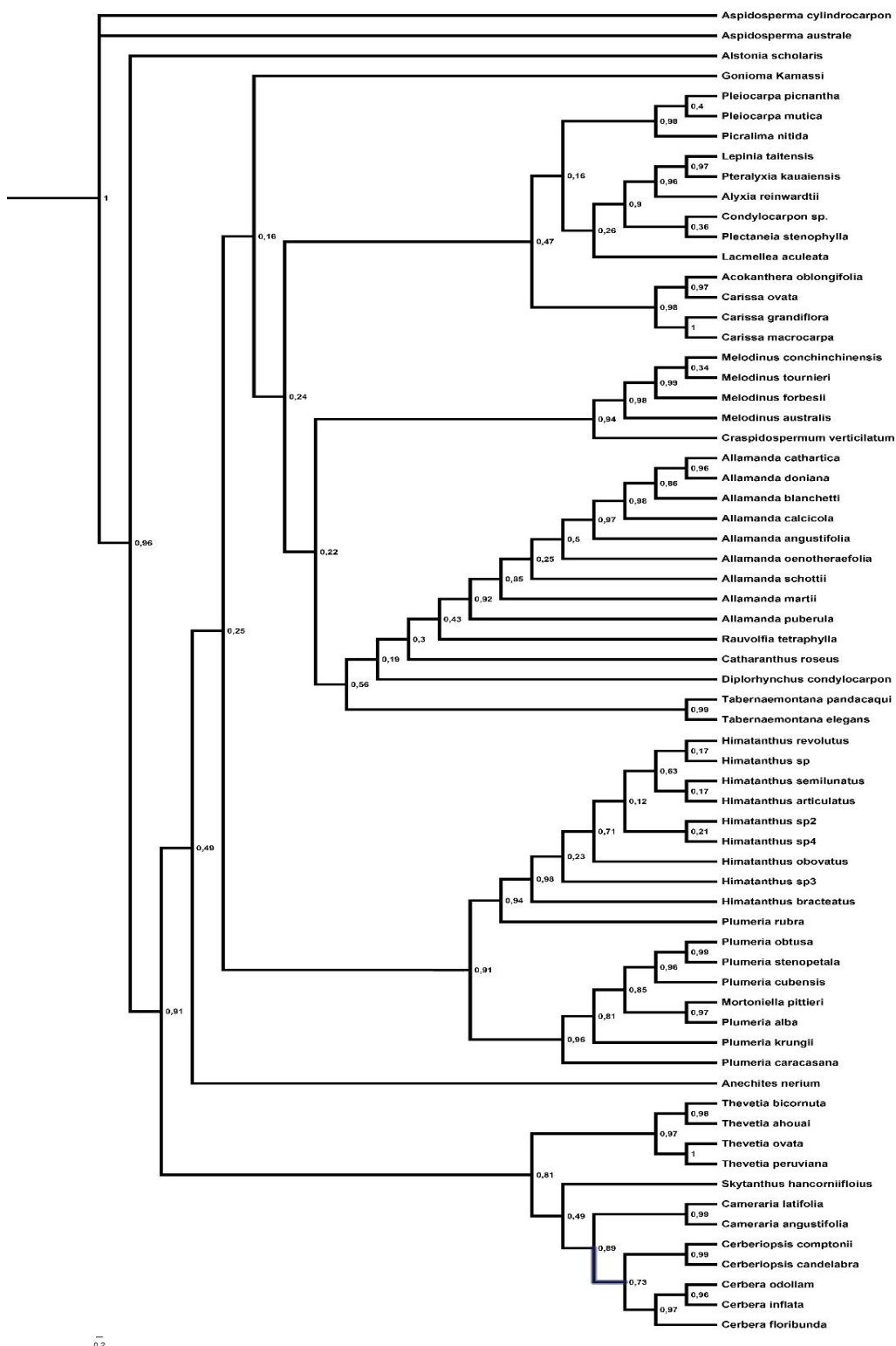


Figura S1: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB do conjunto de dados moleculares de **ITS1**. As probabilidades posteriores (PP) estão indicadas a direita de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

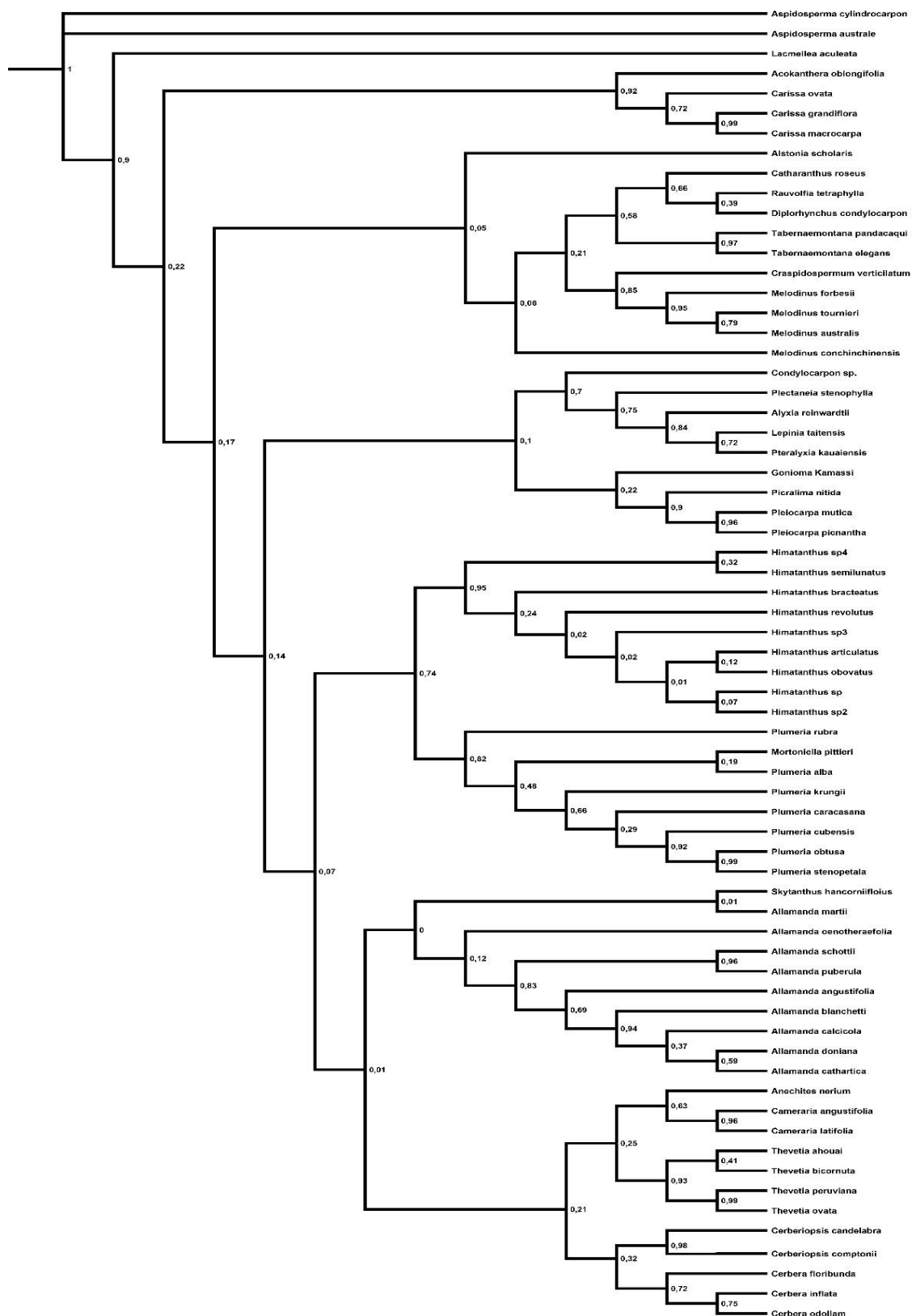


Figura S2: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB do conjunto de dados moleculares de **ITS2**. As probabilidades posteriores (PP) estão indicadas a direita de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

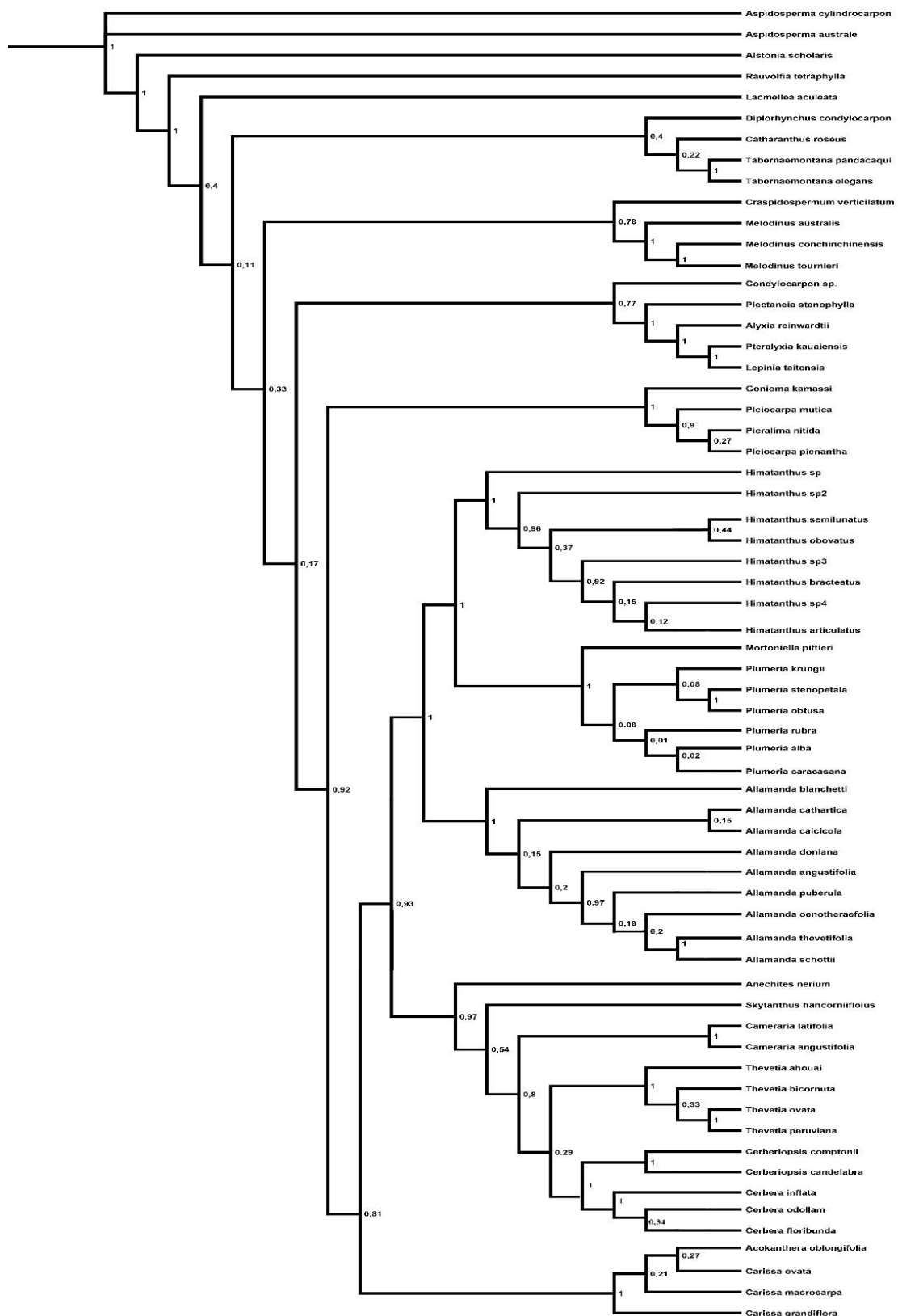


Figura S3: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB do conjunto de dados moleculares de *rps16*. As probabilidades posteriores (PP) estão indicadas a direita de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

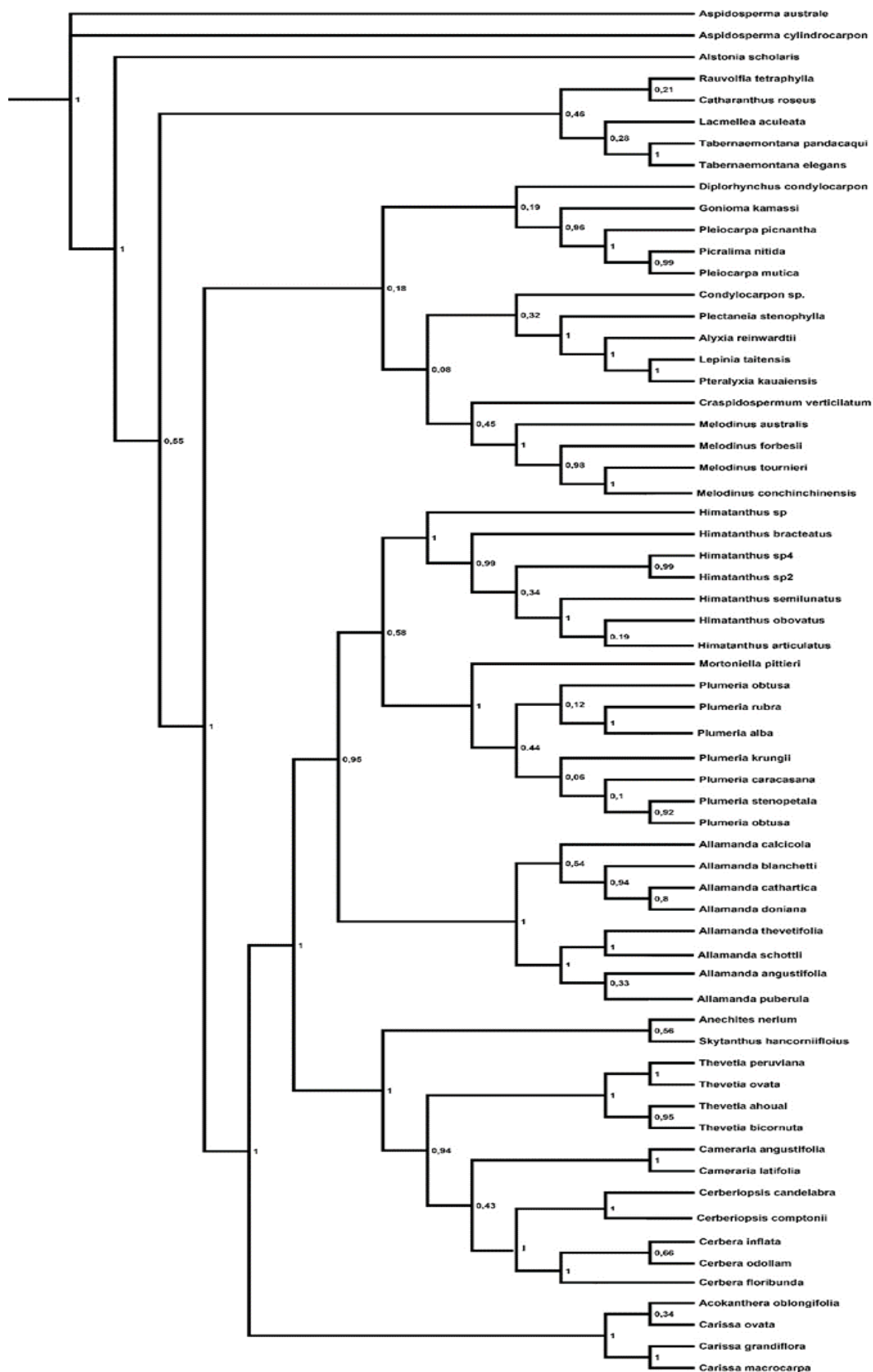


Figura S4: Árvore de máxima credibilidade da análise de IB do conjunto de dados moleculares de *trnSG*. As probabilidades posteriores (PP) estão indicadas a direita de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

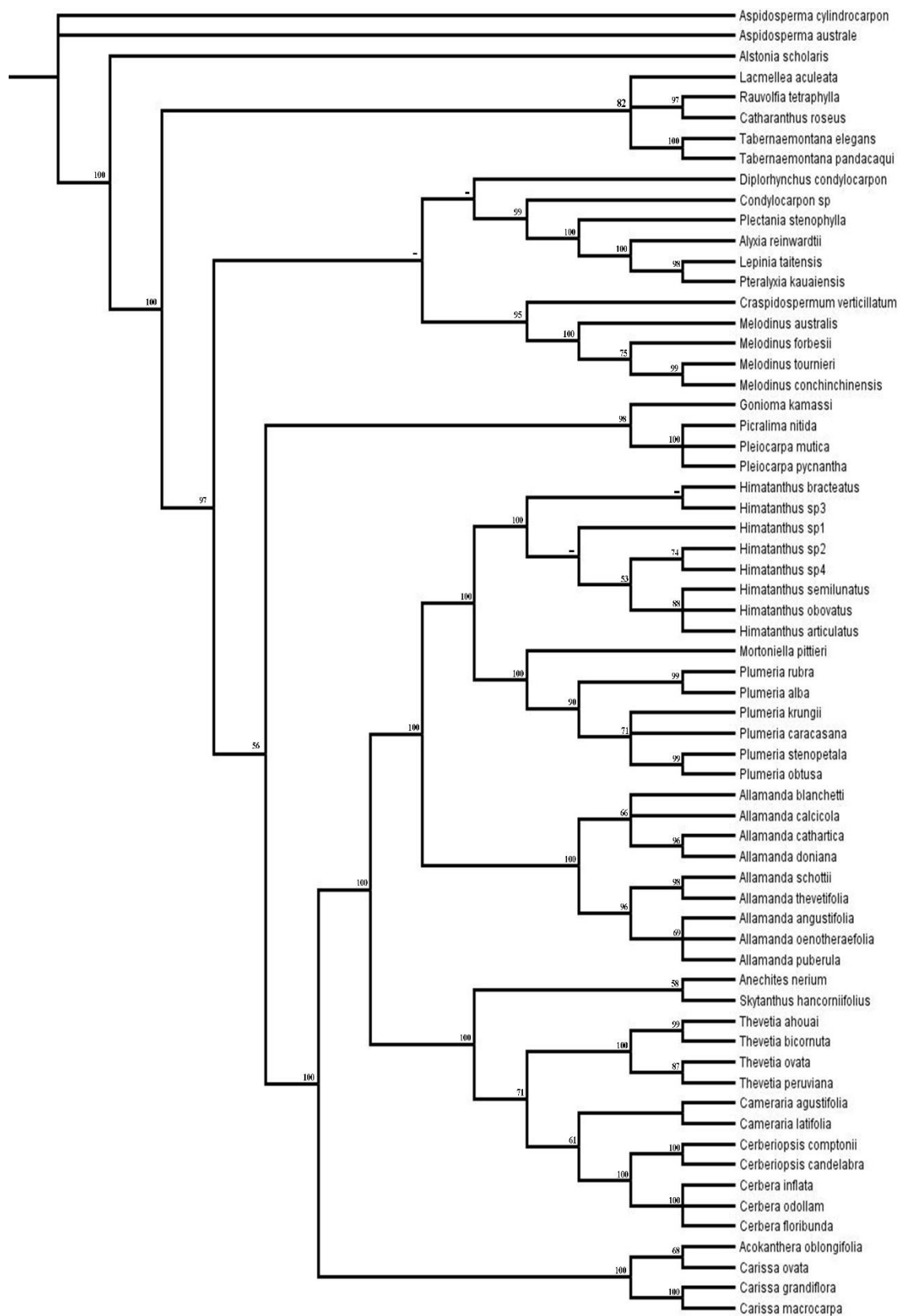


Figura S5: Árvore de consenso da análise de MP do conjunto de dados moleculares de *cpDNA concatenado*. Os valores de Bootstrap (BS) estão indicados acima de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

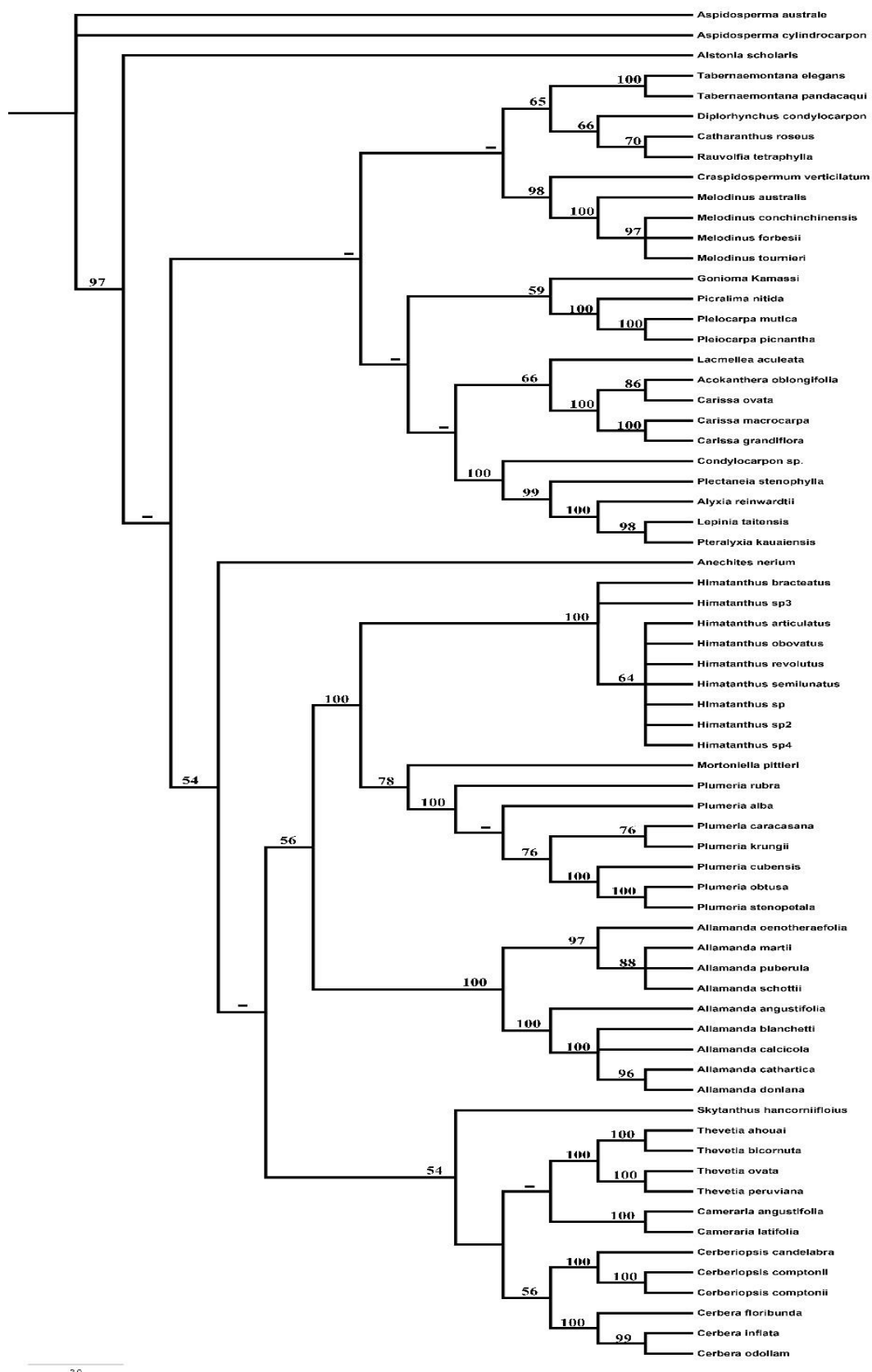


Figura S6: Árvore de consenso da análise de MP do conjunto de dados moleculares de **ITS concatenado**. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados acima de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

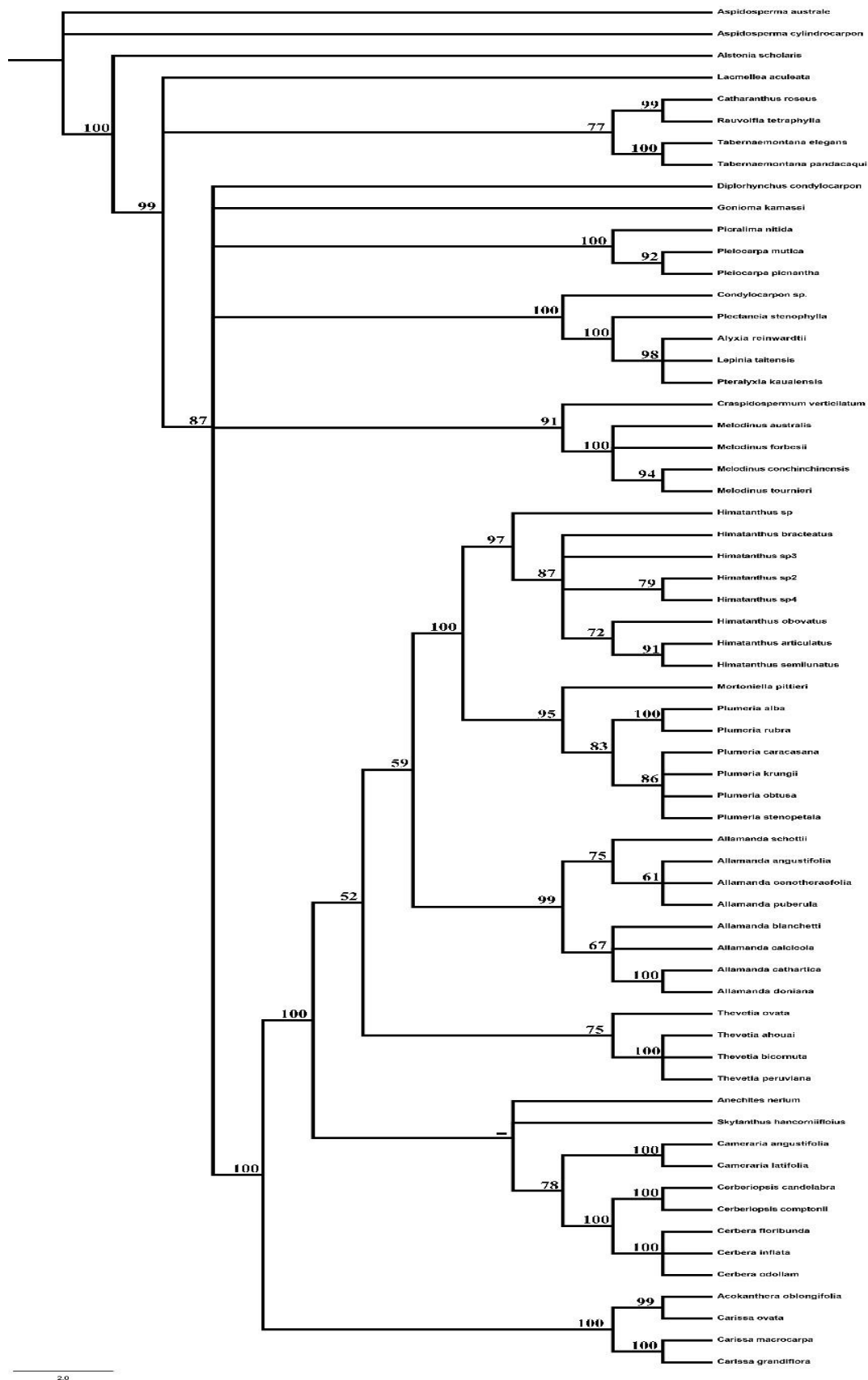


Figura S7: Árvore de consenso da análise de MP do conjunto de dados moleculares de *rpl16*. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados acima de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

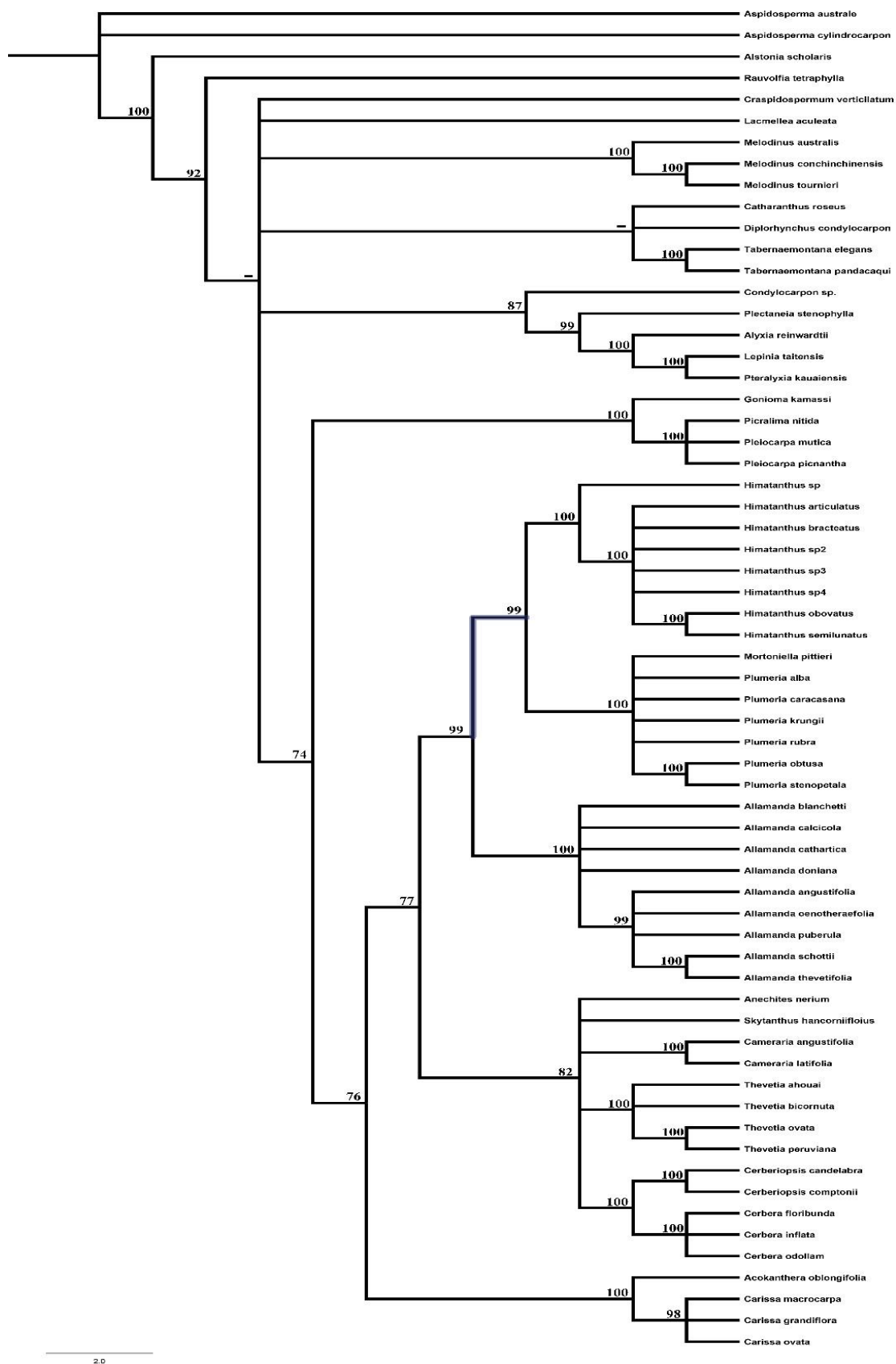


Figura S8: Árvore de consenso da análise de MP do conjunto de dados moleculares de *rps16*. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados acima de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

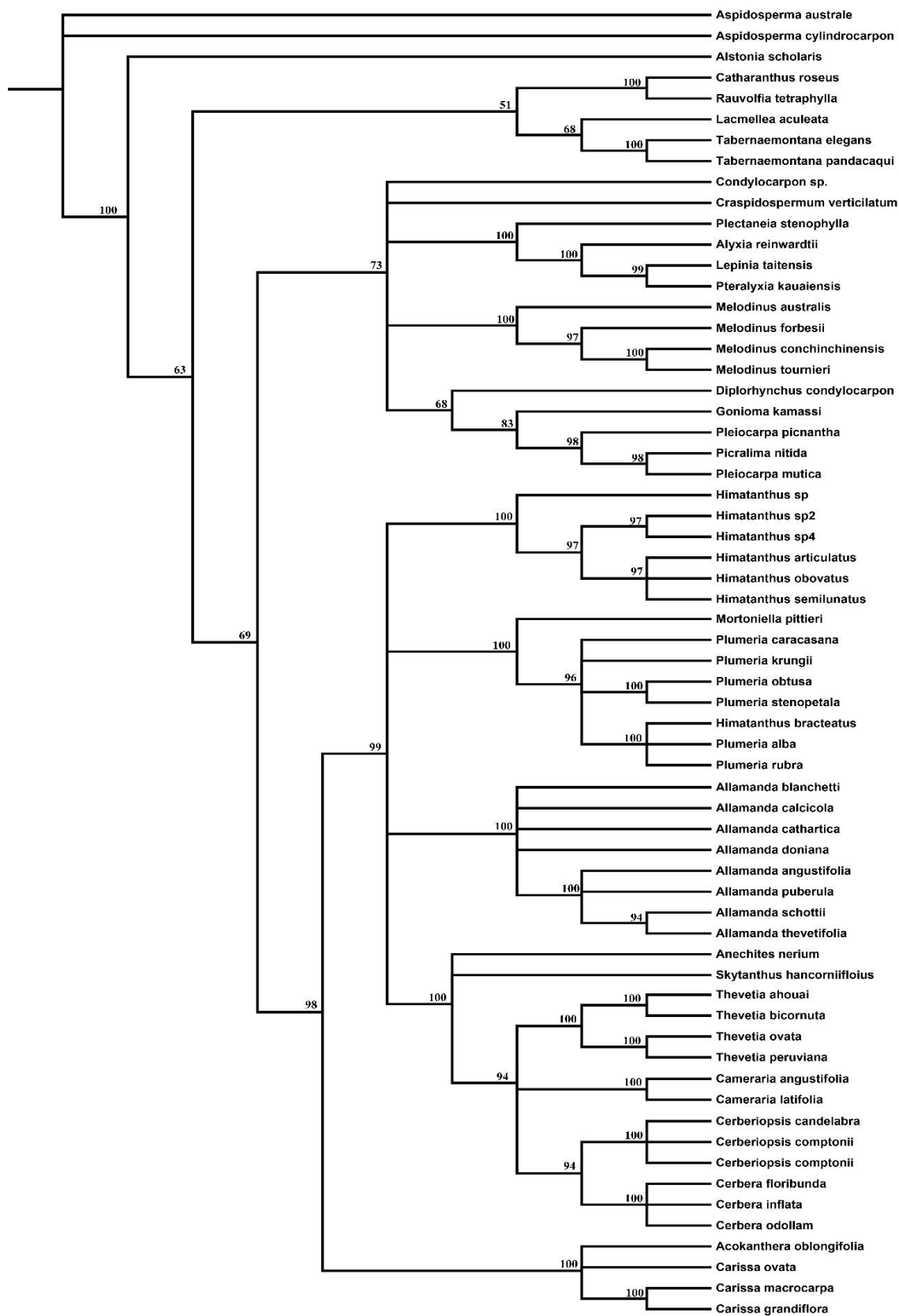


Figura S9: Árvore de consenso da análise de MP do conjunto de dados moleculares de *trnSG*. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados acima de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

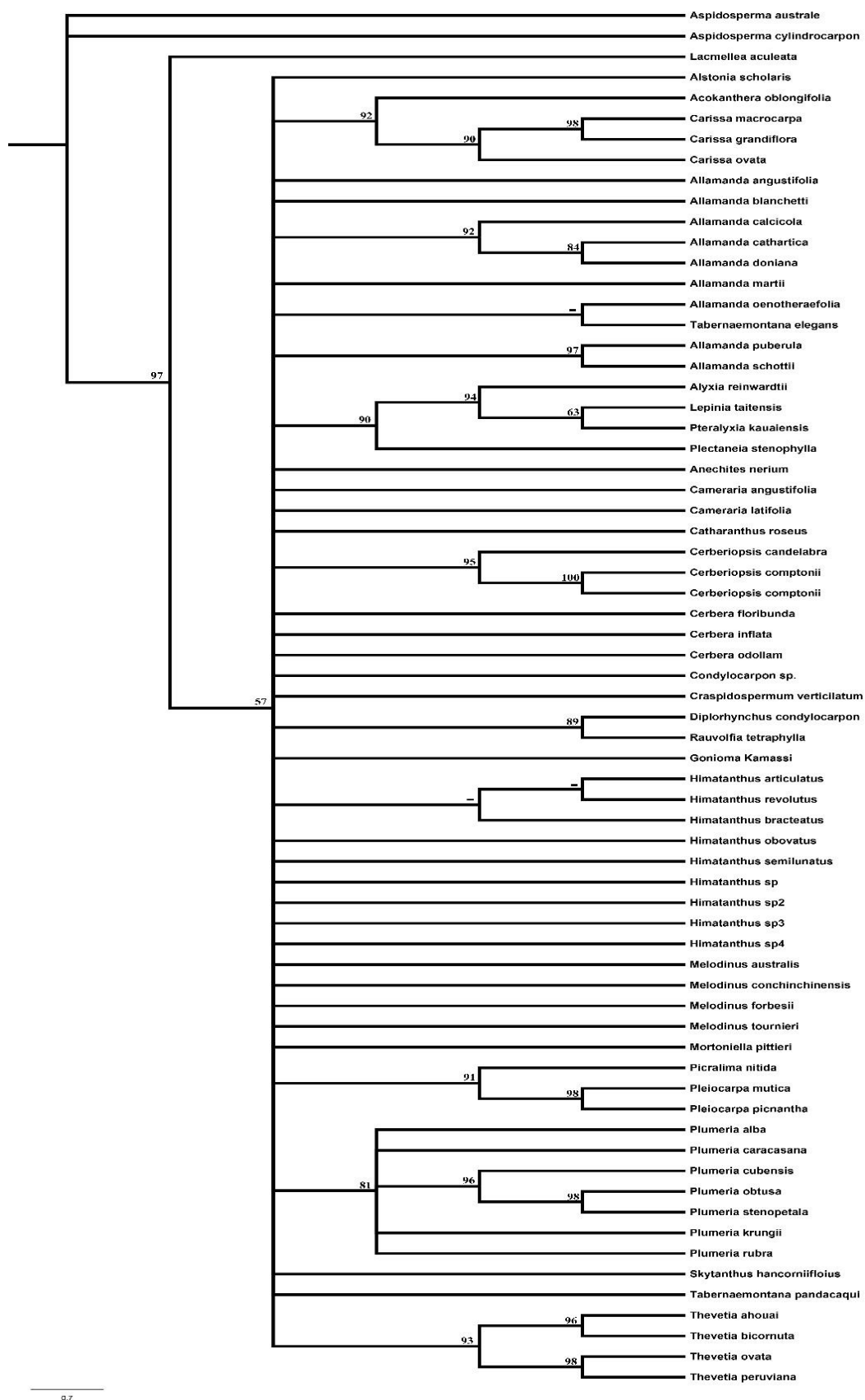


Figura S10: Árvore de consenso da análise de MP do conjunto de dados moleculares de ITS2. Os valores de *Bootstrap* (BS) estão indicados acima de cada ramo. Os nomes completos dos táxons são fornecidos no Apêndice 1.

Capítulo 2

Estudos de caracteres morfoanatômicos florais em Plumerieae E. Mey (GRADO RAUVOLFIOIDE, APOCYNACEAE).

Emília Rosiane Kotovski Tozo Bisinoto¹ & André Olmos Simões²

¹ ²Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Postal Code 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Autor para correspondência: Emília R. Kotovski Tozo Bisinoto, emikoto@yahoo.com.br

RESUMO

Plumerieae é uma tribo com distribuição cosmopolita que possui 10 gêneros e 53 espécies, subdividida em três subtribos muito distintas entre si. Esta distinção entre as subtribos ocorre pela grande variação morfológica dos verticilos reprodutivos e pelos dados moleculares. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é investigar a morfologia e a anatomia de estruturas florais de 24 espécies, para determinar os possíveis caracteres para relacionar e definir os táxons de Plumerieae. As amostras florais foram fixadas em FAA 50, incluídas em paraplast, seccionadas transversal e longitudinalmente e coradas com azul de astra e safranina, seguindo o protocolo padrão de anatomia vegetal. Os resultados mostram que as características florais internas de Plumerieae são muito informativas, com uma enorme variedade morfológica e anatômica, que propicia tanto estabelecer proximidade entre gêneros e espécies, quanto delimitá-las, corroborando com a classificação vigente da tribo. A presença e organização de idioblastos secretores nas lacínias do cálice e corola é constante, mas a organização e distribuição é variada na tribo, exceto em *Allamanda*, único gênero a não apresentar idioblastos secretores em suas estruturas florais. Coléteres calicinais na base das lacínias e anel nectarífero estão presentes apenas em *Allamanda* e *Thevetia*, no entanto com diferenças em cada gênero. A presença de coléteres no ápice das lacínias do cálice é característica de *Mortoniella* e *Plumeria*, constituindo a mesma descrição anatômica das células epidérmicas dos coléteres apresentada na literatura. A plasticidade morfológica de outras estruturas como corona, anteras, ovário e cabeça do estilete, contribui para delimitação das três subtribos, como a corona corolina formada por tricomas em *Allamanda*. Já a anatomia proporcionou a elucidação de algumas estruturas florais, como a ausência de nectário não estruturado em gêneros desprovidos de anel nectarífero; ausência de lignificação das anteras na tribo; a conação dos apêndices apicais das anteras; a adnação da corona estaminal com a cabeça do estilete em *Cerbera manghas* e *Thevetia ovata*, que remete a mais alta complexidade vista na tribo; e a hemissincarpia em Plumeriinae, *Skytanthus* e *Thevetia*.

Palavra-chaves: antera; cabeça do estilete; corona; coléter calicinal; ovário

Título abreviado: Morfoanatomia Floral em Plumerieae

ABSTRACT

Plumerieae is a tribe with cosmopolitan distribution that has 10 genera and 53 species, subdivided into three subtribes very distinct from each other. This distinction between the subtribes occurs due to the great morphological variation of the reproductive whorls and by the molecular data. Thus, the objective of this work is to investigate the morphology and anatomy of flower structures of 24 species, to determine the possible characters to relate and define Plumerieae taxa. The flower samples were fixed in FAA 50 and it were included in paraplast. Posteriorly, were sectioned transversely and longitudinally, and stained with astra blue and safranin, following the standard laboratory protocol of plant anatomy. The results show that the internal flower characteristics of Plumerieae are very informative, with a great morphological and anatomical variety, which allows establishing relations of proximity between genera and species, as well as delimiting them, corroborating with the current classification of the tribe. The presence and organization of secretory idioblasts in the calyx and corolla is constant and varied into the tribe, except in *Allamanda*, the only genus that does not present idioblasts in its flower structures. Calycine colleters in the base of the sepal and nectariferous ring are present only in *Allamanda* and *Thevetia*, however with distinction in each genus. The presence of calycine colleters at the apex of the sepal is characteristic of *Mortoniella* and *Plumeria*, constituting the same function and histological description for epidermal cells of the colleters presented in the literature. The morphological plasticity of other structures such as corona, anthers, ovary and style head, contributes to the delimitation of the three subtribes, such as corolline corona formed by trichomes in *Allamanda*. The anatomy of these structures provided the elucidation, such as absence of nectariferous structures for those genera lacking the nectariferous ring; absence of anther lignification in the tribe; fusion of the apical appendages of the anthers and adnation of the corona with the style head in *Cerbera manghas* and *Thevetia ovata*, referring to the highest complexity seen in the tribe; and hemisyncarpy in Plumeriinae, *Skytanthus* and *Thevetia*.

Keywords: anther; calycine colleter; corona; ovary; stylar head

Short title: Floral Morphoanatomy in Plumerieae

INTRODUÇÃO

A morfologia floral é extremamente útil para a delimitação e identificação de plantas em diferentes níveis taxonômicos, como famílias, tribos, gêneros e espécies, constituindo, tradicionalmente, a base das classificações botânicas. A anatomia floral é uma metodologia antiga que agrega e traz muitas informações em relação as estruturas florais, como por exemplo os trabalhos realizados por Woodson & Moore (1938) que estudaram a vascularização e a morfologia floral de 39 gêneros e 59 espécies de Apocynaceae. Allorge (1976) estudou a morfologia e biologia floral de 25 gêneros em seu trabalho, com foco em táxons do grado rauvolfioide. Fallen (1986) estudou aspectos morfológicos e anatômicos de flores em 65 espécies dos grados rauvolfioide e apocynoide. Outros trabalhos como os de Boke (1949), Rao & Ganguli (1963), Nishino (1982), Fallen (1985), Kunze (1997), Galetto (1997), Torres & Galetto (1998), Lin & Bernardello (1999), Koch *et al.* (2002), Rio (2002, 2006), Rio *et al.* (2002), Simões & Kinoshita (2002), Simões *et al.* (2004, 2006, 2007), Demarco (2005), Demarco *et al.* (2006), Gomes (2006), Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007), Marquete *et al.* (2007), Gomes *et al.* (2008), Marasca (2008), Aguiar (2009), Martins *et al.* (2010), Martins (2012), Demarco (2014, 2017), Morokawa *et al.* (2015) e Capelli *et al.* (2017) investigaram a morfoanatomia floral de diversos grupos de Apocynaceae. Estes estudos trouxeram grandes contribuições para o conhecimento da família, já que em Apocynaceae há grande variação floral, com estruturas pouco comuns e complexas dentro das angiospermas, como a cabeça do estilete (espessamento apical do estilete), ginostégio (adnação pós-gênita entre o androceu e gineceu) e corona (verticilo entre a corola e o gineceu, de origem corolina ou ginostegial). Desta forma, o estudo anatômico em conjunto com a análise morfológica pode fornecer um *insight* mais profundo nos pontos em que apenas a morfologia se torna insuficiente, principalmente para atingir uma melhor compreensão de grupos heterogêneos e de história taxonômica problemática da família Apocynaceae, como a tribo Plumerieae E. Mey.

Plumerieae, em sua circunscrição atual (Endress *et al.* 2014, capítulo 1 desta tese), abrange 10 gêneros (*Allamanda* L., *Anechites* Griseb., *Cameraria* L., *Cerbera* L., *Cerberiopsis* Viell. ex Pancher & Sébert, *Himatanthus* Willd. ex Schult., *Mortoniella* Woodson, *Plumeria* L., *Skytanthus* Meyen e *Thevetia* L.) distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, África, Ásia e Oceania. Muitas de suas espécies são utilizadas como ornamentais no mundo todo, especialmente dos gêneros *Allamanda* (dedal-de-rainha), *Plumeria* (jasmim-manga), *Himatanthus* (janaguba), *Thevetia*

(chapéu-de-napoleão) e *Cerbera* (jorro-jorro). Além disso, algumas espécies possuem reconhecido valor medicinal (*Allamanda* spp., *Plumeria* spp., *Himatanthus* spp.), madeireiro (*Cerbera* spp.) e toxicidade (*Cerbera* spp. e *Thevetia* spp.), e neste último caso são responsáveis por muitos casos de envenenamento (Hamburger *et al.* 1991, Endress & Bruyns 2000, Bandara *et al.* 2002, Gaillard *et al.* 2004, Gupta *et al.* 2006, Middleton 2007, Frederic *et al.* 2008 e Endress *et al.* 2014). Plumerieae é apresentada na

Figura 1

Esta tribo passou por inúmeras mudanças em sua circunscrição ao longo das classificações taxonômicas da família, devido a ampla variação morfológica de suas estruturas vegetativas e reprodutivas. Estas variações influenciaram na dificuldade de estabelecer delimitações para o reconhecimento como uma única tribo e nas relações entre seus gêneros constituintes. A variação floral reflete-se no reconhecimento de grupos muito díspares morfológicamente, que foram tradicionalmente subdivididos em três ou mais subtribos, tribos distintas, e até mesmo subfamílias (ex., Schumann 1895, Pichon 1948b, 1949, 1950, Allorge 1976, Fallen 1985, Leeuwenberg 1994, Alvarado-Cardenas & Ochoterena 2007 e Endress *et al.* 2014). Essas interpretações conflitantes devem-se às escolhas de caracteres estruturais que também estão presentes na morfologia floral de outros táxons da família, assim como grande peso em características presentes nos frutos e sementes, fazendo com que os seus representantes permutassem entre diferentes grupos nas classificações anteriores. Como exemplo, podemos citar a presença ou ausência de coléteres calicinais, corona, apêndices apicais das anteras, disco nectarífero, posição do ovário (súpero ou semi-ínfero) e grau de conação do mesmo (apocárpico, hemissincárpico ou sincárpico). Além disso, alguns táxons de Plumerieae apresentam estruturas exclusivas no grado rauvolfioide, como anteras com deiscência latrorsa presente nos gêneros da subtribo Thevetiinae. Como exemplo da utilização dos caracteres citados acima, podemos destacar a classificação de Pichon (1948b e 1950) que propôs a subfamília Cerberoideae com base na deiscência latrorsa das anteras e morfologia da cabeça do estilete, subdividindo esta subfamília e também Plumerioideae, em tribos e subtribos com base nas características das anteras como, estruturas de suporte, tamanho dos apêndices apicais das anteras, conatos ou não, presença ou ausência de coléteres calicinais, nectário e corona, carpelos livres ou não, número de lóculos e número de óvulos por carpelo. Allorge (1976) transferiu o gênero *Allamanda* para a subfamília Echitoideae (atual Apocynoideae) pela presença de retináculo e formação de ginostégio, sendo contestada por Fallen (1985) que sugeriu que *Allamanda* voltasse a compor como uma das tribos de

Plumerioideae (atual grado rauvolfioide), pela ausência de adnação entre elementos do androceu e gineceu. Leeuwenberg (1994), para caracterizar as tribos e subtribos, onde os atuais gêneros de Plumerieae estavam presentes, também utilizou como critério de classificação os caracteres florais escolhidos por Pichon (1948b e 1850), mas mudou a circunscrição das tribos e subtribos propostas por Pichon (1948b e 1850).

Vários outros estudos também propuseram afinidades entre alguns gêneros de Plumeriaceae, como Fallen (1983), que sugeriu que *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Thevetia* estariam mais proximamente relacionados com *Anechites*, *Cameraria* e *Skytanthus* pela deiscência latrorsa das anteras e morfologia das cabeça do estilete. Endress & Bruyns (2000), por sua vez, sugeriram uma proximidade entre *Plumeria*, *Mortoniella* e *Himatanthus* pela posição do ovário (semi-ínfero). Já *Allamanda* é um gênero bastante complexo e que continua sendo mantido como grupo a parte dos demais gêneros pela presença de ovário sincárpico, unilocular e morfologia da cabeça do estilete (Endress *et al.* 2014), demonstrando a dificuldade histórica em estabelecer sua relação com os demais gêneros da tribo.

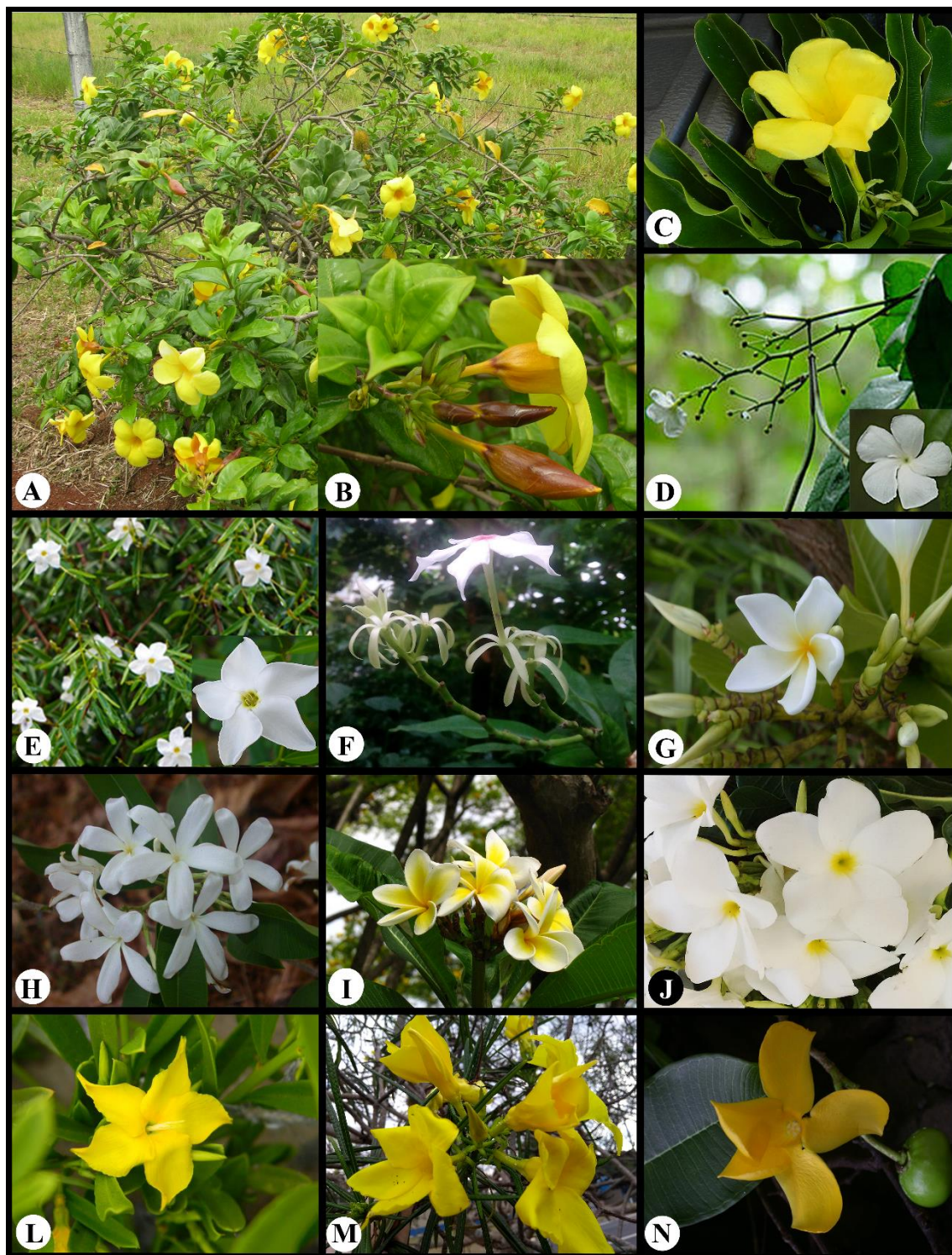
Mesmo assim, o reconhecimento da atual circunscrição da tribo Plumerieae resulta exclusivamente aos dados moleculares, sem a detecção até o momento de sinapomorfias morfológicas ou anatômicas inequívocas para a tribo (ex., Potgieter & Albert 2001, Sennblad & Bremer 2002 e Simões *et al.* 2007).

Outros estudos que tiveram importância para o melhor entendimento dos representantes de Plumerieae, foram os trabalhos de revisão dos gêneros *Cerbera* e *Thevetia* e das relações entre estes dois gêneros por Gensel (1969), Lippold (1980) e Leeuwenberg (1999). Estudos do complexo *Cascabela-Thevetia*, e sistemática, distribuição e conservação de *Cascabela* por Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007) e Alvarado-Cárdenas *et al.* (2017), respectivamente. Woodson (1938) analisou a morfologia de espécies de *Plumeria* e *Himatanthus*, e reconheceu *Mortoniella* (Woodson 1939) como novo gênero, proximamente relacionado à *Plumeria*. Plumel (1990, 1991) e Spina *et al.* (2013) também estudaram as espécies de *Himatanthus*, focando na revisão deste gênero. Fallen (1983) fez uma revisão taxonômica de *Anechites*, descrevendo detalhadamente a morfologia deste gênero e destacando sua similaridade com outros gêneros de Plumeriaceae como *Cameraria*, *Skytanthus* e *Thevetia*. Posteriormente, Fallen (1985) estudou o desenvolvimento do gineceu de *Allamanda schottii* Pohl, demonstrando que o gineceu desta espécie apresenta fusão pós-gênita a partir de dois primórdios carpelares livres. Sakane & Shepherd (1986), por sua vez, fizeram uma revisão taxonômica do gênero

Allamanda. A grande dificuldade encontrada no presente estudo foi para os demais gêneros da tribo, *Cameraria*, *Cerberiopsis* e *Skytanthus*. Para estes gêneros existem apenas algumas citações taxonômicas, como os trabalhos de Morales (2013) para *Skytanthus*, Veillon (1971) e Pichon (1948b) para *Cerberiopsis*, e Morales (2009) para *Cameraria*.

É inegável a importância dos trabalhos até agora desenvolvidos, que culminaram na melhoria da atual circunscrição da tribo, porém há uma escassez de estudos anatômicos em Plumerieae, mesmo para os gêneros mais conhecidos. Esta ciência poderia responder algumas dúvidas que ainda permeiam sobre as estruturas florais na tribo como a apocarpia x hemissincarpia x sincarpia, existência ou não de sinorganização entre as estruturas florais, lignificação das anteras, assim como a investigação de estruturas raras na tribo como nectários, coléteres calicinais e coronas. Além de auxiliar na busca de relações entre estas e outras estruturas florais e os gêneros que constituem a tribo, uma vez estudos mais recentes demonstraram homoplasias em muitos caracteres florais utilizados na classificação taxonômica em Apocynaceae, como diferenciação da cabeça do estilete e a fusão dos ovários (Simões *et al.* 2007).

Diante disso, no presente estudo avaliamos a morfologia e anatomia das flores em espécies selecionadas dos gêneros de Plumerieae, visando reunir dados para verificar padrões e diversificação no grupo, ampliando desta forma o conhecimento da tribo para fins taxonômicos e filogenéticos, buscando responder as seguintes perguntas: 1) para aqueles gêneros que não apresentam anel nectarífero, há nectário não estruturado na parede do ovário?; 2) para os gêneros que possuem anel nectaríferos, estes são morfologicamente e anatomicamente iguais?; 3) existe adnação entre a cabeça do estilete e estruturas presentes na região da corola, como relatado na literatura?; 4) se sim, esta fusão pode ser interpretada como funcionalmente similar a um ginostégio?; 5) as estruturas secretoras no ápice das lacínias do cálice são coléteres calicinais?; se sim, são similares histologicamente aos coléteres calicinais encontrados na base das lacínias de outras espécies da tribo?; 6) existe lignificação das anteras na tribo e 7) as espécies consideradas apocárpicas na literatura são de fato apocárpicas?



Prancha 1: Morfológica floral em Plumerieae. A e B, *Allamanda cathartica*; C, *Allamanda laevis*; D, *Anechites nerium*; E, *Cameraria latifolia*; F, *Cerbera manghas*; G, *Himatanthus obvatus*; H, *Mortoniella pittieri*; I, *Plumeria alba*; J, *Plumeria pudica*; L, *Skytanthus acutus*; M, *Thevetia peruviana* e N, *Thevetia ovata*. **Fotos:** A, B, C, J e M (E. R. Kotovski); D (eol.org); E (fairchildgarden.org); F (M. E. Endress); G (A. O. Simões); H, L e N (J. F. Morales).

MATERIAL E MÉTODOS

Material Botânico

Para o estudo morfoanatômico, foram analisadas flores de 24 táxons, abrangendo nove dos dez gêneros descritos para Plumerieae e de uma espécie do grupo externo (*Carissa carandas* - Carisseae). Uma lista dos táxons estudados e seu material testemunho é apresentada no **Apêndice 1**.

Estudos anatômicos das estruturas florais

Amostras de flores foram selecionadas de um conjunto previamente coletado e fixado em FAA (formalina: ácido acético: etanol na proporção 1:1:18 (Johansen 1940)) e armazenado em álcool etílico 70%. O material de estudo foi desidratado em série butílica até 100% (Johansen, 1940) e incluído em Paraplast® (Leica Microsystems, Heidelberg, Germany). Após emblocamento, foram feitos seccionamentos em micrótomo rotativo (RM-2155 Leica) com navalha descartável. Cortes seriados transversais e longitudinais de 12µm de espessura foram distendidos em lâminas e corados com safranina alcoólica 1% e azul de astra aquoso 1% (Gerlach, 1984). As lâminas permanentes foram montadas com resina sintética (Permout®) e observadas em microscópio Olympus BX51. As imagens em alta resolução dos aspectos considerados relevantes foram obtidas em câmera digital DP71 acoplada ao microscópio Olympus BX51.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Um total de 5 espécies, 4 de *Allamanda* (*A. cathartica* L., *A. laevis* Markgr., *A. puberula* A. DC. e *A. schottii* Pohl.) e uma de *Skytanthus* (*S. hancorniiifolius* (A. DC.) Miers)) foram selecionadas para análise em MEV para visualização de coléres calicinais, tricomas corolinos e cabeça do estilete (*S. hancorniiifolius*). O material fixado em FAA (formalina: ácido acético: etanol na proporção 1:1:18 (Johansen 1940)) foi desidratado em série etílica até etanol absoluto, seco pelo método de ponto crítico, montado em suportes metálicos com fita de carbono e submetido à metalização com ouro. As observações e registros de imagens foram efetuados em MEV Jeol JSM 5800 LV a 10kV com câmera digital acoplada.

Fotodocumentação em estereomicroscópio

Material floral previamente fixado em FAA (formalina: ácido acético: etanol na proporção 1:1:18 (Johansen 1940)) e material fresco, foram fotografados com o auxílio

de câmera digital acoplada à estereomicroscópio para agregar mais informações das características macromorfológicas das estruturas florais.

Construção de matriz de dados e reconstrução de estados de caráter ancestrais

A matriz de dados codificados foi preparada no programa Mesquite 2.75 (Maddison & Maddison, 2011). Todos os caracteres selecionados são qualitativos, com estados discretos (Apêndices 2 e 3). Os caracteres codificados foram mapeados em cladograma construído a partir das relações filogenéticas evidenciadas pelos estudos de Simões *et al.* (2007) e Fishbein *et al.* (2018). Este cladograma inclui todas as vinte e seis espécies aqui estudadas mais vinte e sete espécies disponibilizadas por Mary Endress da Universidade de Zurique (Suíça) de seu laminário particular. A informação sobre o tamanho dos ramos não foi considerada. Para detectar os eventos de mudanças de estado de caráter para os clados, foi aplicada a metodologia de reconstrução de estados de caráter ancestrais implementada no pacote “*Ancestral States Reconstruction Package*” pelo critério de Máxima Parcimônia. Sempre que a reconstrução mostrou-se ambígua para um ou mais nós internos, o modo de visualização MPR (*most parsimonious reconstructions*) foi habilitado, de forma a visualizar todas as reconstruções mais parcimoniosas alternativas.

RESULTADOS

A investigação morfológica e anatômica dos táxons selecionados revelou importantes variações e similariedades estruturais, descritas a seguir:

O cálice, em todas as espécies, é gamossépalo por ser constituído de uma pequena porção basal conata, mas com 5 lacínias (0-3 lacínias visualizadas em *Himatanthus*) profundamente partidas (Figs. 1A e 1B). Em *Mortoniella* e *Plumeria*, a porção apical das lacínias apresenta uma região secretora, senescente em flores adultas (Fig. 1B).

Anatomicamente, o cálice apresenta, em ambas as faces, uma epiderme simples uniestratificada e recoberta por cutícula delgada. Em *Cerbera manghas* L., espécies de *Himatanthus* e *Skytanthus hancorniiifolius* (Figs. 02, 03 e 04), as células epidérmicas apresentam citoplasma denso. Hipoderme com células apresentando conteúdo fortemente corado com safranina foi visualizada em *Cerberiopsis*, *Skytanthus acutus*, *Himatanthus bracteatus* (A. DC.) Woodson, *Mortoniella*, *Plumeria alba* L. e *Carissa carandas* L. (uma camada) (Fig. 03, 04 e 08), *Cerbera manghas* (duas camadas) (Fig. 02), *Skytanthus hancorniiifolius*, *Himatanthus obovatus* (Müll. Arg.) Woodson e *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (indeterminada) (Fig.06). A determinação não clara do número de

camadas da hipoderme é devido ao grande número de idioblastos secretores que se acumulam, de forma não muito clara, próximos à periferia do mesofilo. O mesofilo é formado por células parenquimáticas heterodiamétricas, sem idioblastos secretores nas espécies de *Allamanda*, ou com os idioblastos secretores distribuídos estocasticamente, próximos à epiderme ou próximos aos feixes vasculares nas demais espécies da tribo e em *Carissa carandas* (Figs. 02, 03 e 05). Feixes vasculares próximos à face adaxial (Fig. 10) e laticíferos ocorrem no mesofilo de todos os táxons (Figs. 02, 03 e 05).

Coléteres calicinais dispostos internamente nas lacínias foram encontrados apenas nos gêneros *Allamanda* e *Thevetia* (Fig. 11). Os coléteres são estruturas persistentes, localizados basalmente na face adaxial das sépalas (Figs. 12 e 13) ou, apenas inseridos na margem das sépalas internas (*A. puberula*) (Fig. 14). Todas as espécies de *Thevetia* analisadas apresentam coléteres, enquanto em *Allamanda*, estas estruturas estão ausentes em *A. blanchetti* e *A. cathartica*. Já em *Plumeria* e *Mortoniella*, os coléteres estão na porção apical das lacínias (Figs. 07e 09).

A organização dos coléteres calicinais varia nas espécies estudadas. No gênero *Thevetia* ocorrem opostos às lacínias (Fig. 15). Em *Allamanda*, eles formam um anel contínuo em *A. schottii* (Fig. 16), encontram-se opostos às lacínias em *A. laevis* (Figs. 11 e 17) e alternos às lacínias em *A. puberula* (Fig. 14). O número de coléteres é variável nas espécies estudadas, entretanto em *A. puberula* a variação numérica é mais branda, de zero a dois coléteres por lacínia (Fig. 14). Em *Mortoniella* ocorrem apenas na porção adaxial do ápice da lacínia e em *Plumeria* ocorrem na porção adaxial e parte da porção abaxial do ápice da lacínia (Figs. 07, 7A, 08, 09, 9A e 10).

Os coléteres calicinais são íntegros (tipo *Standard*) (Fig. 17), com um corpo secretor cônico a digitiforme e um pedúnculo curto não secretor em *Thevetia* (Fig. 13). Em *Allamanda*, os coléteres apresentam uma ampla variação morfológica, sendo íntegros ou bífidos em *A. laevis* (Fig. 17), íntegros, fusionados ou bífidos em *A. schottii* (Figs. 16 e 21) e, com pedúnculo longo e estreito atingindo um terço do comprimento total do coléter em *A. puberula*, descrito aqui como tipo “*puberula*” (Fig. 18).

Anatomicamente, nestes dois gêneros, o pedúnculo dos coléteres é constituído por uma epiderme uniestratificada não secretora, com células parenquimáticas fundamentais recoberta por uma cutícula delgada (Fig. 19). A porção secretora, denominada de corpo, levemente achatado dorsiventralmente (Figs. 20 e 21), é constituída por uma camada epidérmica de células alongadas radialmente (em paliçada), recoberta por uma cutícula fina e com eixo central parenquimático formado por células não secretoras alongadas

tangencialmente (Figs. 19 e 20). As células secretoras apresentam citoplasma de aspecto denso, responsáveis pela produção de exsudato ácido, corado fortemente pela safranina (Figs. 19, 20 e 21). Na região mais apical do coléter, ocorre o destacamento da cutícula, sem seu rompimento, formando um espaço subcuticular, onde a secreção é liberada para o meio exterior (Fig. 22). Já em *Plumeria* e *Mortoniella*, os coléteres não são formados por emergências, sendo constituídos apenas por células epidérmicas em paliçada contendo conteúdo secretor e preenchidos por células parenquimáticas calicinais. Em todas as espécies não foram observados tricomas, vascularização, idioblastos secretores ou laticíferos nos coléteres calicinais.

A **corola** é infundibuliforme em *Allamanda* e na maioria das espécies de *Thevetia* (Fig. 23) e hipocrateriforme em *Skytanthus*, *Cameraria latifolia* L., *Cerbera Cerberiopsis*, *Mortoniella*, *Plumeria*, *Himatanthus*, *Thevetia ahouai* (L.) A.DC. e *Carissa carandas* (Fig. 24). Nas flores infundibuliformes, o tubo da corola apresenta duas porções bem definidas: uma porção inferior estreita e tubular que se estende até a região de inserção dos estames, e uma porção superior dilatada acima dessa região estaminal (Fig. 23).

Na região próxima à inserção dos estames, há dois tipos morfológicos de tricomas corolinos, infraestaminais e supraestaminais. Os tricomas infraestaminais, de superfície lisa (Figs. 29 e 31), presentes em todos os táxons, tendendo a ficar mais agrupados próximos aos estames (Figs. 26, 29 e 31), exceto em *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria* (Fig. 25). Em *Cerbera manghas* e em *Skytanthus*, os tricomas infraestaminais se entendem até a região do ovário, assim como também observado em *Mortoniella*, *Himatanthus* e *Plumeria* (Fig. 25).

Os tricomas supraestaminais, de aspecto moniliforme (Fig. 30), estão inseridos logo acima da porção livre dos estames, porém em *Mortoniella* e *Himatanthus* estes tricomas estão localizados mais distalmente em relação às anteras (Fig. 25). Nas espécies de *Allamanda*, estes tricomas são extremamente longos, formando uma corona (Figs. 27 e 29) e em *Thevetia*, *Cameraria*, *Skytanthus*, *Cerbera* e *Cerberiopsis* eles estão inseridos em uma projeção do tecido corolino (Figs. 28 e 31).

As projeções do tecido corolino denominados aqui de corona corolina (apêndices supraestaminais) e corona estaminal (apêndices infraestaminais), estão presentes em *Cameraria*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus*, *Thevetia* (Figs. 28, 31 e 32) e em *Allamanda*, mas neste último gênero as projeções são pouco evidentes e, ausentes em *Mortoniella*, *Himatanthus*, *Plumeria* e *Carissa carandas* (Fig. 25). Em *Cerbera manghas*

e *Thevetia ovata*, as coronas estaminais estão adnatas à cabeça do estilete, logo abaixo do anel basal (Fig. 33), enquanto nas demais espécies ocorre apenas o contato entre estas estruturas.

Anatomicamente, a corola apresenta, em ambas as faces, uma epiderme uniestratificada recoberta por uma cutícula fina. A epiderme apresenta células com citoplasma denso, em *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Himatanthus* (Figs. 34, 35 e 37). Quando presente, uma hipoderme formada por células com conteúdo citoplasmático denso apresenta variação no número de camadas. Em *Cerbera manghas*, *Skytanthus* e em *Cerberiopsis neriifolia* esta hipoderme apresenta uma camada (Fig. 36), sendo duas ou mais em *Cerbera odollam* Gaertn. (Fig. 35), *Carissa carandas* (Fig. 34) e no gênero *Himatanthus* (Fig. 37). No parênquima fundamental, as células são heterodiamétricas e, os feixes vasculares e espaços intercelulares ocorrem próximos à face adaxial em todas as espécies analisadas (Figs. 35-38). Idioblastos secretores ocorrem dispersos pelo parênquima em *Skytanthus hancorniiifolius* (Fig. 38), próximos aos feixes vasculares nas espécies de *Cerbera* e *Cerberiopsis neriifolia* (Fig. 35 e 36), próximos à epiderme adaxial também em *Cerberiopsis neriifolia* (Fig. 36) ou próximos à epiderme abaxial em espécies de *Himatanthus*, *Skytanthus acutus* Meyen. e em *Thevetia bicornuta* Müll. Arg. (Fig. 37), além de estarem presentes no parênquima das coronas em *Cerberiopsis neriifolia*. Os laticíferos e feixes vasculares estão dispersos pelo mesófilo da corola em todas as espécies.

A estrutura do **androceu**, nas espécies estudadas, apresenta cinco estames epipétalos, com filetes conspícuos em *Allamanda*, *Mortoniella*, *Plumeria*, *Himatanthus*, em *Cerberiopsis neriifolia*, e em *Carissa carandas* (Figs. 40, 41 e 46) ou filetes inconspícuos nas espécies de *Cerbera*, *Thevetia* e em *Cerberiopsis candelabra*, onde as anteras possuem uma estrutura de suporte denominada de “*rib*”, oriunda da estrutura que se projeta da corola, denominada coroa estaminal (Fig. 46). Já nas espécies de *Skytanthus* e em *Cameraria latifolia* as anteras são totalmente sésseis (Fig. 39D). Em todos os táxons, as anteras curvam-se em direção ao centro do tubo da corola, em maior ou menor grau de inclinação, menos expressiva em espécies de *Plumeria*, *Himatanthus*, *Mortoniella*, *Skytanthus* e em *Carissa carandas* (Figs. 40 e 41), formando um cone acima da cabeça do estilete (Fig. 42). Apenas em *Mortoniella* e *Carissa carandas* as anteras não tocam a cabeça do estilete (Fig. 40). Em *Plumeria*, *Himatanthus* e *Allamanda* uma pequena porção basal das anteras tocam os apêndices apicais da cabeça do estilete (Fig. 41). Em *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus*, e em *Cameraria latifolia*, as tecas das anteras

ficam totalmente acomodadas sobre os apêndices apicais da cabeça do estilete (Figs.42 e 46).

As anteras são sempre tetrasporangiadas, com deiscência rimosa introrsa em *Mortoniella*, *Himatanthus*, *Plumeria*, *Allamanda* e em *Carissa carandas* (Fig.43 e 44), e latrorsa em *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia* (Figs. 45 e 48). As anteras são totalmente férteis em todos os gêneros, exceto *Allamanda*, no qual as anteras apresentam uma porção basal estéril. Esta região estéril é formada pelo prolongamento dos sacos polínicos dorsais, recebendo a denominação de apêndices basais das anteras ou asas das anteras (Fig. 39B).

O conectivo, em todos os táxons, se estende entre as tecas e acima das mesmas, formando uma estrutura denominada de apêndice apical da antera (Figs. 39A-D). Estes apêndices diferem tanto em sua morfologia quanto em seu tamanho, estando livres entre si ou conatos em *Thevetia ovata* e *Cerbera manghas* (Figs. 42 e 49). Nos gêneros *Mortoniella*, *Himatanthus*, *Plumeria* e em *Carissa carandas*, o apêndice apical é diminuto, com formato obtuso e comprimido dorsiventralmente (Fig. 39A). Em *Allamanda*, e na maioria das espécies estudadas de *Thevetia*, *Cerbera* e *Cerberiopsis*, o apêndice apical é bem conspicuo, de formato deltoide e comprimido dorsiventralmente (Figs.39B e 39C). Em *Cameraria latifolia*, *Thevetia peruviana* e no gênero *Skytanthus*, os apêndices são longos, entrelaçados e de formato filiforme, sendo extremamente desenvolvidos em *Cameraria latifolia* e em *Skytanthus* (Fig. 39D).

Anatomicamente, o filete é constituído por uma epiderme uniestratificada, cutícula, tecido fundamental parenquimático, um único feixe vascular central, com idioblastos secretores presentes apenas em *Skytanthus* e *Carissa carandas* (Figs. 47). O conectivo apresenta epiderme uniestratificada recoberta por cutícula, tecido parenquimático fundamental e um feixe vascular central (Fig. 44).

Na antera das flores em antese, cada saco polínico é constituído por epiderme e pelo endotécio (Figs. 43, 44 e 45). A epiderme é uniestratificada e formada por células não lignificadas e recoberta por cutícula delgada. Contudo, nos gêneros *Allamanda*, *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, as células epidérmicas da porção dorsal das anteras apresentam parede celular mais espessada (Fig. 44A). O endotécio é formado por células cujas paredes apresentam espessamento secundário lignificado em forma de faixas (barras de espessamento) em todo o tecido (Fig. 44A). Este espessamento secundário ocorre tanto na parte fértil quanto na parte estéril das anteras em *Allamanda*. Idioblastos secretores foram visualizados no endotécio de *Cerberiopsis neriifolia*,

Skytanthus e *Carissa carandas* (Figs. 47 e 48). Os apêndices apicais apresentam epiderme simples com células alongadas, parênquima fundamental com feixe vascular ausente e idioblastos secretores apenas em *Skytanthus*.

Um **anel nectarífero** conspicuo e pentalobado localizado ao redor do ovário está presente somente nos gêneros *Allamanda* e *Thevetia* (Figs. 50-53). Em *Allamanda* este anel é livre desde a base até o ápice (Figs. 54 e 59), com cinco lobos apicais pouco evidentes ou bem definidos em *Allamanda* (Figs. 50 e 51). Em *Thevetia* o anel nectarífero está totalmente ou parcialmente adnato ao ovário, dependendo da espécie. Em *Thevetia ahouai* o nectário está inteiramente adnato ao ovário, com a porção basal dos lóculos ovarianos na altura da região nectarífera (Figs. 57 e 60). Em *Thevetia peruviana*, o nectário está fusionado em metade de sua estrutura com o ovário, com os lóculos ovarianos quase totalmente imersos na região nectarífera (Fig. 55). Já em *Thevetia bicornuta* Müll. Arg. e *Thevetia ovata*, o nectário está fusionado em 2/3 de sua estrutura com o ovário, com os lóculos ovarianos quase totalmente imersos na região nectarífera (Fig. 56).

A epiderme do anel nectarífero, em *Allamanda* e *Thevetia*, é uniestratificada (Fig. 61). O parênquima fundamental nectarífero é constituído por células pequenas de parede fina e citoplasma denso, por laticíferos dispersos e por tecido vascular formado por feixes que circundam toda a estrutura nectarífera (ex. Figs. 56, 58A, 59 e 61).

O **gineceu** em todas as espécies estudadas é bicarpelar (Figs. 62-75), com placenta bem desenvolvida (Figs. 64, 71-75), variando de súpero em *Allamanda*, *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus*, *Thevetia* e em *Carissa carandas* (Fig. 65) a semi-ínfero em *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria* (Fig. 66). Três padrões de organização dos carpelos foram encontrados: 1) ovário apocárpico em *Cameraria*, *Cerbera* e *Cerberiopsis* (Figs. 67 e 71); 2) hemissincárpico em *Thevetia*, *Plumeria*, *Himatanthus* e *Mortoniella* (Figs. 69, 72 e 73); para *Skytanthus* existe uma pequena porção fusionada na base, leve imersão do ovário no receptáculo floral e aqui considero como hemissincárpico também (Figs. 68 e 74); e 3) sincárpico em *Allamanda* e *Carissa carandas* (Figs. 70 e 75). Em *Allamanda* o gineceu é unilocular com placentação parietal, portando muitos óvulos em quatro fileiras com ao longo de cada carpelo (Figs. 70 e 75). Em *Carissa carandas* o gineceu é bilocular com placentação axilar, portando um óvulo por carpelo. Em *Himatanthus*, *Mortoniella*, *Plumeria* e *Skytanthus*, os ovários estão conatos a uma porção da região basal, de placentação mista, axilar na base conata e marginal na porção livre, portando muitos óvulos, dispostos em quatro fileiras por carpelo

(Figs. 66, 68, 72 e 74). Em *Thevetia*, os ovários também estão conatos em uma porção da região basal, com placentação também mista, mas há somente dois óvulos por carpelo (Figs. 69 e 73). Em *Cameraria latifolia*, *Cerbera* e *Cerberiopsis*, cada carpelo apresenta duas fileiras de óvulos, portando dois no gênero *Cerberiopsis* e quatro óvulos por carpelo em *Cameraria latifolia* e *Cerbera*, todos com placentação marginal (Figs. 65, 67, 71 e 76).

Dois estiletes filiformes fusionados entre si, extremamente reduzidos em *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, se estendem ao longo da corola até a região de inserção das anteras. A porção apical dos estiletes forma uma estrutura dilatada denominada de cabeça do estilete que apresenta diferentes graus de modificação morfo-funcional.

Anatomicamente, os táxons apresentam a mesma estruturação histológica do ovário, apenas diferenças no número e distribuição das células de conteúdo citoplasmático denso. A parede do ovário possui uma epiderme externa uniestratificada. Idioblastos secretores próximos a linha de deiscência foram visualizados em *Cerbera odollam* e em *Cerberiopsis candelabra* Vieill. ex Pancher & Sebert (Figs. 76 e 77). Uma camada hipodérmica de células com conteúdo fortemente corado com safranina foi observada em *Himatanthus* spp., *Cerberiopsis neriifolia* e *Skytanthus* (Figs. 74 e 76). O mesofilo ovariano é formado por várias camadas compactas de células parenquimáticas pequenas de parede pecto-celulósica delgada e citoplasma de aspecto denso. Idioblastos secretores dispersos pelo parênquima foram visualizados em *Thevetia bicornuta*, nos gêneros *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Himatanthus*, *Skytanthus* e *Carissa carandas* (Figs. 66, 69 e 76). Feixes vasculares e laticíferos estão dispersos entre as células parenquimáticas do mesofilo de todos os táxons. Os laticíferos são células bem destacadas no tecido fundamental por apresentarem parede pecto-celulósica levemente espessada e formato cilíndrico (Fig. 78). O sistema vascular do ovário consiste de feixes vasculares que circundam toda a estrutura ovariana (Fig. 73). Não foi visualizado tecido nectarífero no ovário em *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Himatanthus*, *Mortoniella*, *Plumeria*, *Skytanthus* e *Carissa carandas*. Na região de fechamento e união dos carpelos (linha de sutura) formam-se duas fileiras de células epidérmicas colunares, em corte transversal, de paredes justapostas, que se estendem da epiderme externa e entre a placenta, dando continuidade a epiderme interna (Fig. 77). O obturador está presente em todas as espécies de Plumerieae, sendo constituído por células epidérmicas placentárias de formato colunar. A epiderme interna do ovário é unisseriada e revestida por cutícula delgada. Os óvulos

são formados por um tegumento e constituídos por células de conteúdo citoplasmático ácido, corado pela safranina (Fig. 77).

Os **estiletos** são formados por uma epiderme uniestratificada e um parênquima fundamental com dois feixes vasculares, cada um oriundo de cada carpelo. Idioblastos secretores estão presentes em *Skytanthus* e *Carissa carandas*. O tecido transmissor nos gêneros *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Thevetia* se mantém individualizado para cada carpelo, sem ocorrência de cômputo, como visto nos demais gêneros da tribo.

A **cabeça do estilete** apresenta adnação ao tecido corolino em *Cerbera manghas* e *Thevetia ovata*, formando uma estrutura similar ao ginostégio (Fig. 96).

Morfologicamente, os táxons apresentam ampla variação da cabeça do estilete. Em *Mortoniella* e *Carissa carandas*, a cabeça do estilete é morfologicamente homogênea, com formato ovoide em *Mortoniella* e fusiforme em *Carissa carandas*. Nestas duas espécies, a cabeça do estilete é formada por um corpo principal secretor desprovido de anel apical e basal, possuindo dois pequenos apêndices apicais livres e paralelos entre si, com tricomas longos em *Mortoniella* (Figs. 79, 86, 107 e 108). Em *Plumeria* e *Himatanthus*, a cabeça do estilete é pouco diferenciada, cilíndrica em *Himatanthus* (Figs. 80 e 87) e obovoide em *Plumeria* (Figs. 81 e 88), com um corpo principal secretor, apresentando anel apical em ambos os gêneros, mas pouco desenvolvido em *Himatanthus*, e dois apêndices apicais livres e paralelos entre si (Figs. 87, 88, 105, 106, 109-112). Nos demais táxons, a cabeça do estilete é diferenciada em **três regiões** morfofuncionais (Figs. 82-85).

A **primeira região** é constituída por um par de apêndices apicais, conatos basalmente (Figs. 91-96, 115, 123, 128 e 132) e livres na porção mediana e apical em *Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis candelabra*, *Skytanthus* e *Thevetia* (Figs. 116, 124, 129 e 133). Em *Allamanda* e *Cerberiopsis neriifolia*, os apêndices são livres em toda a extensão e paralelos entre si (Figs. 89 e 120). O tamanho dos apêndices apicais em relação ao tamanho total da cabeça do estilete também variou na tribo. Em *Plumeria*, *Himatanthus bracteatus* e *Himatanthus obovatus* variou entre 1/6-1/5. Em *Allamanda*, *Mortoniella* e *Himatanthus drasticus*, variou entre 1/4-1/3. Em *Skytanthus* e *Cerberiopsis candelabra* a variação foi de 1/2 e, em *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis neriifolia* e *Thevetia*, foi de 2/3 ou mais (Figs. 84, 90-96).

A **segunda região** constitui o corpo principal, apresentando formato cônico em *Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Skytanthus acutus* e *Thevetia* (ex. Fig. 83), cônico na porção dos apêndices apicais e cilíndrico na região secretora em *Cerbera* e *Cerberiopsis*

candelabra, carretel em *Allamanda* e *Cerberiopsis neriifolia*, com estreitamento conspicuo na porção mediana, e fusiforme em *Skytanthus hancorniifolius*, com a morfologia influenciada em grande parte pela região abaixo do anel basal que é mais desenvolvida nesta espécie e pela redução da porção secretora (ex. Figs. 82 e 85). O corpo principal é, por sua vez, subdividido em **três** porções: **01**- porção superior formada por um anel apical; **02**- porção mediana onde se localizam os tricomas secretores; e **03**- porção inferior constituída por um anel basal. O anel apical é bem desenvolvido em *Allamanda* e *Thevetia* (Figs. 83, 89, 99, 119), já em *Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Cerberiopsis*, *Cerbera* e *Skytanthus* é pouco expressivo (Figs. 91-95, 97, 98, 127 e 131). A porção secretora também apresenta diferença entre as espécies. Nos gêneros *Allamanda* e *Cerberiopsis* a porção secretora se estende em grande porção do corpo principal da cabeça do estilete (Figs. 89, 90 e 94), já nas demais espécies se limita a uma pequena porção, principalmente em *Anechites*, *Skytanthus hancorniifolius* e *Thevetia* (Figs. 95 e 96). O anel basal está ausente em *Cerbera odollam* (Fig. 93), bem desenvolvido em *Allamanda* e *Thevetia* (Figs. 83, 89 e 121) e reduzido em *Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Skytanthus* (Figs. 90-92, 94, 95 e 102-104).

A **terceira região**, denominada região estigmática, localiza-se logo abaixo do anel basal. Esta porção é obicônica em *Allamanda* e em toda a subtribo Thevetiinae (Figs. 82-85, 90 e 95).

Anatomicamente, a cabeça do estilete é formada por tecido parenquimático fundamental, com células heterodiamétricas de parede delgada (ex. Figs. 93 e 94). Próximo aos feixes vasculares, as camadas de células parenquimáticas seguem a mesma orientação desses feixes (Figs. 92 e 95). Dois feixes vasculares concêntricos, oriundos de cada um dos carpelos, se estendem desde a porção basal do estilete filiforme até a cabeça do estilete, onde se mantêm paralelos (ex. Figs. 86-89, 110, 119 e 126) ou se ramificam em direção aos apêndices apicais em *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Thevetia* (Fig. 96). Idioblastos secretores estão presentes em *Himatanthus*, *Skytanthus* e *Carissa carandas* (Figs. 91, 113-115). O anel apical pode ser formado tanto por tricomas, como visto em *Allamanda*, *Cerbera odollam*, *Himatanthus*, *Plumeria* e *Skytanthus acutus* (Figs. 87, 88, 93, 105 e 111), sendo bem longos em *Allamanda* (Figs. 89, 99 e 119). Já em *Cameraria latifolia*, *Cerbera manghas*, *Cerberiopsis* e *Skytanthus hancorniifolius* o anel apical é constituído por leve expansão parenquimática com tricomas (Figs. 90-92, 94, 95, 97 e 98). Em *Thevetia* o anel apical é formado por tricomas e expansões parenquimáticas bem definidas (Fig. 96) que formam dez projeções visíveis a olho nu

(Fig. 83). A região secretora é formada por tricomas curtos (ex. Figs. 94, 95, 100, 113, 118, 122, 126, e 130), apresentando base celular alargada (Fig. 100), com conteúdo secretor que é liberado extracelularmente e corado em vermelho pela safranina (Fig. 118). O anel basal é formado por células epidérmicas justapostas com projeções parenquimáticas (Figs. 101-104). Em *Thevetia*, ocorrem projeções parenquimáticas extremamente desenvolvidas, formando dez projeções, com cerca de 3 células epidérmicas que contornam toda a circunferência do anel basal (Fig. 96). Em *Allamanda* o anel basal é formado por 18-20 células epidérmicas (Fig. 101), e por 5-9 células em *Cameraria latifolia*, *Cerberiopsis*, *Cerbera* e *Skytanthus* por (Figs. 102-104). Os apêndices apicais são formados por uma epiderme não secretora e tecido parenquimático fundamental (ex. Figs. 92-96). A epiderme é variável quanto ao formato de suas células, predominando células papilosas em *Allamanda puberula*, *Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis candelabra*, *Skytanthus hancorniiifolia* e *Thevetia* (Figs. 91, 92, 94 e 95). Já em *Mortoniella*, a epiderme apresenta tricomas unicelulares (Figs. 79 e 86). Idioblastos secretores são vistos em *Skytanthus* e *Carissa carandas* (Fig. 91). Feixes vasculares não ocorrem em toda extensão dessa estrutura, ficando restritos apenas na região basal e mediana dos apêndices apicais (ex. Figs. 92-96). Desta análise morfológica e anatômica floral das espécies estudadas foram listados 45 caracteres codificados em uma matriz morfoanatômica que será utilizada em trabalhos futuros, disponíveis nos apêndices 2 e 3.

DISCUSSÃO

Plumerieae, em sua circunscrição atual, é uma das tribos morfologicamente mais heterogêneas do grado rauvolfioide. O seu monofiletismo tem sido corroborado por diferentes autores (Sennblad & Bremer 2002, Endress *et al.* 2007b, Simões *et al.* 2007, 2010, 2016, Fishbein *et al.* 2018, Kotovski & Simões, capítulo 1 desta tese), mas a grande diversidade estrutural em suas estruturas vegetativas e reprodutivas tem dificultado a interpretação das relações intergenéricas entre seus representantes (Pichon 1948b, 1949 e 1950, Leeuwenberg 1994, Endress *et al.* 2007a, 2014). Contudo, o estudo desta variação apresenta grande potencial para definir grupos, como sugerido por Alvarado-Cárdenas & Ochoretena (2007), e para compreender a origem, desenvolvimento e evolução de estruturas florais (Fallen 1986, Endress *et al.* 2007 e Simões *et al.* 2007).

Nossos resultados reforçam a morfologia e anatomia floral como fonte de caracteres informativos para Plumerieae. Ao analisar o cálice, por exemplo, constatamos que lacínias em número de cinco é condição praticamente invariável nos representantes de Plumerieae. A única exceção é *Himatanthus*, que possui entre zero e três lacínias, característica importante para diferenciá-lo de *Plumeria* e *Mortoniella*, gêneros de morfologia floral muito similar. Não existem relatos na família de ocorrer variação no número elementos livres do cálice, talvez pela constância desta característica em Apocynaceae ou porque o enfoque esteja no diagnóstico de outras características variáveis do cálice, como sua textura, cor e presença/ausência de coléteres (ex. Alvarado-Cárdenas & Ochoretena 2007). A epiderme do cálice com citoplasma de aspecto denso em *Cerbera manghas*, espécies de *Himatanthus* e *Skytanthus* sugere atividade secretora. Os gêneros em que estão inseridas estas espécies não têm uma relação muito próxima na tribo, principalmente *Himatanthus* que tem mais similaridade com *Mortoniella* e *Plumeria*, o que sugere que esta característica tenha surgido de forma independente em *Himatanthus*, *Cerbera* e *Skytanthus*. Outras células com conteúdo secretor também foram identificadas na tribo, como idioblastos secretores e a sua organização em hipoderme com número variado de camadas ou distribuídos aleatoriamente pelo parênquima calicinal, sugerem que esta possa ser uma sinapomorfia para a tribo, perdido apenas em Allamandinae e alguns representantes de *Thevetia*. Os idioblastos secretores são muito citados em órgãos vegetativos e em frutos, sendo descritos, por exemplo, por Rio *et al.* (2005), Galetto (1997) e Appezzato-da-Glória & Estelita-Teixeira (1992), ocupando posição hipodérmica ou estocasticamente dispersos nos diferentes órgãos florais. A presença e organização da hipoderme pode fornecer caracteres com potencial de uso taxonômico em nível de gênero

e espécies. Nas espécies dos gêneros *Allamanda*, *Thevetia* e em *Cameraria latifolia* não há presença de hipoderme. Nos gêneros *Cerberiopsis* e *Plumeria* ocorrem variações na presença ou ausência de hipoderme, dependendo da espécie analisada. Já nos gêneros *Cerbera*, *Himatanthus*, *Skytanthus* e em *Mortoniella*, a hipoderme está presente e é constante. Contudo, o número de camadas está mais condicionado à espécie, pois em um mesmo gênero podem ocorrer tanto uma única camada, como em *S. acutus* ou número indeterminado de camadas, pela grande quantidade destas células no mesofilo, visto em *S. hancorniiifolius*. Isso foi visto em *Cerbera* que variou de uma a duas camadas, *Himatanthus* que apresentou duas a camadas indeterminadas (mais comumente) e *Plumeria*, onde *Plumeria alba* foi a única espécie a apresentar hipoderme.

Coléteres são estruturas secretoras com função de proteger o meristema e órgãos em desenvolvimento, pela produção e secreção de substâncias mucilaginosas ou mista (Thomas & Dave 1991, Ramayya & Bhader 1968, Willians *et al.* 1982, Dave *et al.* 1987, Thomas *et al.* 1989, Esau 1965 e Demarco 2008), encontrados em cerca de 60 famílias de angiospermas (Fahn 1979, 1990 e Thomas 1991). Nos táxons estudados, apenas espécies de *Allamanda* e *Thevetia* apresentam coléteres calicinais distribuídos na base das lacínias. Contudo, em *Mortoniella* e *Plumeria*, identificamos coléteres calicinais no ápice das lacínias. Estes coléteres são similares aos coléteres de *Allamanda* e *Thevetia* pela morfologia das células epidérmicas em paliçada e pela sua funcionalidade de células epidérmicas secretora. A diferença é que no ápice das lacínias não ocorreu a formação de uma emergência constituída normalmente por um pé não secretor e um corpo digitiforme que é a estrutura do coléter padrão. Sendo assim, interpretamos que estas estruturas encontradas em *Plumeria* e *Mortoniella*, mesmo não sendo padrão, são coléteres calicinas pelo critério funcional e pela morfologia das células secretoras. A importância sistemática dos coléteres calicinais foi evidenciada por Woodson & Moore (1938), ao demonstrarem que a variação em sua forma, número e posição podem ser usados em diagnósticos taxonômicos. Em *Thevetia*, eles estão dispostos de maneira oposta as lacínias. Já em *Allamanda*, ocorrem as três categorias propostas por Woodson & Moore (1938), opostos, alternos e contínuos, constituindo potencial taxonômico para identificação de suas espécies, como já citado por Sakane & Shepherd (1987). Fallen (1983) ao estudar *Anechites*, também relatou presença de coléteres calicinais tando na base das lacínias, dispostos de maneira irregular, quanto em forma de glândula no ápice das lacínias. Diante disso, fica evidente que coléteres calicinais estão restritos a três gêneros em Plumerieae e portanto podem ser utilizados no diagnóstico destes gêneros, e que sua organização

pode ser utilizada na caracterização de espécies. Estas variações no padrão de distribuição encontrado nestes gêneros também são vistas em outras espécies das cinco subfamílias, como no grado rauvolfioide (Endress & Bruyns 2000 e Simões *et al.* 2007). Nesta subfamília, coléteres foram observados em apenas 23 de seus 78 gêneros, especialmente nas tribos Alstonieae, Vinceae, Willughbeieae, Hunterieae e Tabernaemontaneae, sendo os alternos as lacínias os mais comuns (Mirabella 1897, Boiteau & Allorge 1978, Fallen 1986, Thomas 1991, Thomas & Dave 1991, Sennblad *et al.* 1998 e Middleton 2007).

Coléteres calicinais no ápice das lacínias são extremamente raros e foram encontrados em poucos gêneros de Apocynaceae, como relatados em *Anechites* (Fallen 1983), *Mortoniella* e *Plumeria*. Como estes três gêneros pertencem à Plumerieae, é provável que esta estrutura esteja restrita a esta tribo em Apocynaceae, hipótese esta que pode ser testada com o estudo de novos táxons da família. Como *Mortoniella* e *Plumeria* são filogeneticamente relacionados (capítulo 1 desta tese), o coléter apical nas lacínias representa um bom caracter diagnóstico destes dois gêneros, com provável origem homóloga. Já o ápice secretor em *Anechites* tem uma provável origem análoga, visto seu maior distanciamento filogenético com *Mortoniella* e *Plumeria*. Embora gêneros irmãos, *Mortoniella* e *Plumeria* possuem diferenças na distribuição do coléter no ápice das lacínias que permitem o seu reconhecimento, pois *Mortoniella* possui células secretoras apenas na porção adaxial das lacínias e *Plumeria* possui além de células secretoras na região adaxial também possui em parte da região abaxial da lacínia.

Morfológicamente, a maioria dos estudos em Apocynaceae reportam os coléteres como sendo o tipo *Standard*, descrito por Lersten (1974a, b) para as espécies de Rubiaceae. Este tipo é caracterizado pela presença de um corpo secretor único, cônico ou digitiforme, formado por um corpo parenquimático revestido por uma epiderme secretora em paliçada, e um pedúnculo curto não secretor. Todavia, estudos mais recentes têm evidenciado outros tipos morfológicos (Rao & Ganguli 1963, Rio 2001, Rio *et al.* 2002, Demarco 2005, Rio *et al.* 2005, Rio 2006, Simões *et al.* 2006 e Marasca 2008). Em *Thevetia* só foi visualizado o tipo padrão, mas em *Allamanda* há uma variação muito grande na morfologia desses coléteres, desde o tipo *Standard* até os bifurcados, ramificados, fusionados entre si e, um tipo particular denominado aqui de “tipo puberula” por apresentar um pedúnculo longo. Segundo Simões *et al.* (2006), o tipo *Standard* aparece tanto em gêneros mais basais quanto em gêneros mais derivados de Apocynaceae, possivelmente surgindo várias vezes em linhagens não relacionadas, supondo que esta seja uma condição plesiomórfica na família. Os demais tipos já relatados para a família seriam, por consequência, condições apomórficas, que também teriam surgidos

independentemente em diferentes grupos. A partir de modificações estruturais no tipo *Standard*. Provavelmente, a evolução independente dos coléteres seja a explicação de sua presença em *Allamanda*, *Anechites* e *Thevetia*.

Dois padrões morfológicos básicos da corola foram encontrados em Plumerieae, infundibuliforme e hipocrateriforme. Em ambos os tipos, a corola apresenta uma porção tubular fusionada e cinco lobos apicais livres, sendo que no tipo hipocrateriforme o diâmetro da corola é relativamente constante enquanto no tipo infundibuliforme a metade ou terço superior do tubo é alargado (Radford *et al.* 1974). A distribuição dos tricomas supra e infraestaminais apresentam variação em *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*. Primeiramente, eles são menos abundantes do que nos demais gêneros estudados. Em *Mortoniella* e *Himatanthus*, os tricomas supraestaminais estão localizados na porção mais distal no tubo da corola, enquanto em *Plumeria* estão localizados próximos aos estames. Nas subtribos Allamandinae e Thevetiinae os tricomas corolinos compõem as coronas. Os tricomas supra e infraestaminais são morfológicamente distintos entre si, sendo os infraestaminais mais curtos e de superfície lisa e, os supraestaminais mais longos e do tipo moniliforme, embora ambos os tipos sejam unicelulares. Segundo Alvarado-Cárdenas & Ochoreta (2007), há uma variação na ornamentação dos tricomas, sendo constante nos táxons, como sugerido por Pichon (1948b) logo, seria necessária investigação em microscopia eletrônica de varredura, para melhor defini-los na tribo, como visto aqui para *Allamanda*.

Liede e Kunze (1993) ao estudarem representantes de Asclepiadoideae, propuseram uma classificação no tipo de coronas de acordo com a posição dessas estruturas na flor. Estes autores distinguiram quatro tipos de corola: corolina (Cc), estaminal (Cs), interstaminal (Ci) e anular (Ca). Nas flores hipocrateriformes de *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria*, todos da subtribo Plumeriinae, não apresentam coronas. Já nos gêneros das outras duas subtribos, Allamandinae e Thevetiinae, observamos coronas em espécies tanto com corola hipocrateriforme quanto infundibuliforme. Em *Allamanda*, os tricomas supraestaminais são bem desenvolvidos, sendo citados como corola fimbriada por Allorge (1986), Fallen (1985) e Endress *et al.* (2000). Nós adotamos aqui o termo corola corolina para designar este conjunto de tricomas, em virtude de sua posição no tubo floral e suposta origem a partir da corola. A mesma terminologia será adotada para os apêndices observados nos gêneros estudados de Thevetiinae (*Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia*), embora nestes gêneros a projeção do tecido da corola seja mais expressiva na formação da corola do que em *Allamanda*. Os apêndices infraestaminais, aqui definidos como

corona estaminal (Cs), também são constantes nas espécies que apresentam corona corolina, sendo menos desenvolvidos em espécies de *Allamanda* e mais conspícuos em espécies de Thevetiinae. Em *Thevetia ovata* e *Cerbera odollam*, a corona estaminal está adnata à cabeça do estilete, logo abaixo do anel basal da mesma, o que caracterizaria um tipo funcionalmente similar ao ginostégio. A caracterização desta parte fusionada como ginostégio é controversa. Endress *et al.* (1996) argumenta que o apêndice infraestaminal (corona estaminal) de representantes de Thevetiinae não é homóloga ao retináculo, tecido estaminal na base da teca que promove a fusão do androceu com a cabeça do estilete nas espécies das subfamílias Apocynoideae, Asclepiadoideae, Periplocoideae e Secamonoideae, e portanto não representa um ginostégio. No grado rauvolfioide, as estruturas florais internas são muito simples, em comparação às outras subfamílias, este fato nos leva a supor que a presença de coronas, arranjo de tricomas e adnação a cabeça do estile, sejam condições derivadas em Plumerieae, que podem ter surgido no ancestral de Plumerieae sendo posteriormente perdidas em Plumeriineae, ou surgiram de forma independente em Allamandinae e Thevetiinae.

Anatomicamente, corola com presença de epiderme com conteúdo secretor, hipoderme com número variado de camadas e idioblastos secretores são características com valor taxonômico entre os gêneros e espécies analisados de Plumerieae. A epiderme secretora foi observada em todas as espécies estudadas de *Cerbera*, *Cerberiopsis* e *Himatanthus*. Já a variação de camadas da hipoderme está relacionada ao nível de gênero como em *Himatanthus* e *Skytanthus* ou de espécie, como em *Cerbera*. O valor taxonômico destas características se estende a outros grupos do grado rauvolfioide como *Carissa carandas*, *Ancylobotrys scandens* (Schumach. & Thonn.) Pichon e *Melodinus balansae* Baill. (Observação de laminário de amostras de todas as tribos do grado rauvolfioide). A distribuição dos idioblastos secretores também variou entre os gêneros, desde próximo aos feixes em *Cerbera* e *Cerberiopsis*, próximo à epiderme abaxial em *Himatanthus* ou dispersos estocasticamente em *Skytanthus*. Como visto no cálice, a epiderme com células secretoras e a hipoderme, podem apresentar um potencial taxonômico. Já os idioblastos secretores se mantêm constantes em praticamente todos os táxons analisados, sugerindo que a sua ocorrência pode ser relativamente comum, possivelmente estando presente no ancestral comum de Plumerieae, sendo perdidos na subtribo Allamandinae e em algumas espécies de *Thevetia*.

O estudo taxonômico do androceu tem sido importante para a delimitação infrafamiliar em Apocynaceae (Endress & Bruyns 2000), devido a ampla variação morfológica das anteras. Fallen (1986) reconheceu quatro níveis de complexidade das

anteras nesta família, desde o mais basal, com anteras não especializadas, ovóides, com base cordada e sem lignificação no dorso, até os mais derivados evolutivamente, com anteras com conectivo expandido na base que causa o afastamento lateral das tecas, região dorsal lignificada que se prolonga em uma base sagitada e anteras adnatas à cabeça do estilete, formando o ginostégio. Nas espécies estudadas foram reconhecidos três padrões morfológicos bem distintos, que correspondem às três subtribos de Plumerieae. As formas mais simples, ovóides com apêndice apical obtuso e inconspícuo e sem lignificação no dorso foram observadas em *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria* (Plumeriinae). As anteras sagitadas, com apêndice apical deltoide e expansão dorsal estéril ocorrem exclusivamente em *Allamanda* (Allamandinae). Já as anteras de formato deltoide e tecas deslocadas lateralmente devido à expansão do conectivo na região basal e com apêndice apical desenvolvido ocorrem em *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Skytanthus* e *Thevetia*, (Thevetiinae), sendo o apêndice deltoide em *Cerbera*, *Cerberiopsis* e espécies de *Thevetia*, e filiforme em *Cameraria latifolia*, *Skytanthus* e *Thevetia peruviana*. Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007) descrevem que a forma obtusa do apêndice apical representa uma condição plesiomórfica que derivou para a forma deltoide e, posteriormente, duas vezes de maneira independente, para a filiforme, sendo essa evolução decorrente possivelmente da distensão do conectivo. Estas variações podem estar relacionadas à evolução do mecanismo de polinização, já que as estruturas florais apresentam uma precisa organização para otimizar o processo de polinização, tornando-a mais eficiente. Nossos resultados também identificaram uma possível tendência evolutiva devido ao padrão de sinorganização das anteras, sugerindo que a sinanteria decorrente da fusão entre os apêndices apicais das anteras de *Cerbera manghas* e *Thevetia ovata* em Plumerieae, representa a maior complexidade encontrada na tribo. Sinanteria foi constatada em *Trachelospermum* Lem., *Odontadenia* Benth. (Allorge 1976) e já havia sido citada previamente em *Cerbera* (Pichon, 1948c e Allorge 1976). No entanto, para a confirmação dessa possível evolução é necessários estudos mais detalhados do apêndice apical das anteras em outras tribos do grado rauvolfioide.

Nas espécies analisadas, as anteras podem estar inseridas em um filete, em uma estrutura denominada de “rib”, que foi sugerido por Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007) como sendo homóloga ao filete, ou podem estar diretamente conectadas ao tubo corolino como em *Skytanthus* e *Cameraria latifolia*. Os filetes foram encontrados nos gêneros de Plumeriinae que não apresentam corona estaminal, mas não estão limitados a

esta condição, sendo encontrados também em *Allamanda*, que apresenta corona estaminal pouco desenvolvida, e em *Cerberiopsis neriifolia* que possui corona estaminal bem proeminente. Em representantes das diferentes tribos do grado rauvolfioide, predominam anteras inseridas em filetes relativamente distintos (observação de laminário do grado rauvolfioide), o que sugere que em Plumerieae seja uma condição plesiomórfica, perdida na maioria das Thevetiinae.

A deiscência das anteras também apresenta grande potencial para uso taxonômico em Plumerieae. Mesmo todas as espécies apresentando anteras com deiscência por fenda longitudinal nas tecas, a mesma pode ser introrsa ou latrorsa. Esta variação provavelmente está relacionada à expansão do conectivo na porção basal e entre as tecas das anteras durante o seu desenvolvimento, o que afasta as tecas de sua posição original. Pichon (1948b) em seus estudos de classificação, se baseou na deiscência das anteras para reconhecer a proximidade entre *Cerbera* e *Thevetia*. Aqui, além destes gêneros, *Anechites* (Fallen 1983), *Cameraria latifolia*, *Cerberiopsis* e *Skytanthus*, apresentam deiscência latrorsa. *Allamanda*, *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria* são gêneros cujas anteras apresentam tecas paralelas e não separadas pelo crescimento do tecido do conectivo, resultando em uma deiscência introrsa. Diante desta constatação, as subtribos apresentam diferenças entre elas, com Plumeriinae e Allamandinae apresentando deiscência introrsa e Thevetiinae latrorsa, sendo identificado como sinapomorfia para esta subtribo.

Em Apocynaceae há uma variação quanto a lignificação das anteras, ocorrendo em diferentes regiões, como na parte apical, basal ou em toda a extensão dorsal das tecas. Este processo, no entanto, é comum nas subfamílias Apocynoideae, Asclepiadoideae e Secamonoideae mas raramente ocorre no grado rauvolfioide, sendo restrito às espécies de Tabernaemontaneae (Endress & Bruyns 2000), Alstonieae e Vinceae (observação de laminário) nesta subfamília. Anatomicamente, as anteras das espécies estudadas são muito similares, variando no número de camadas do endotécio e na presença ou ausência de idioblasto secretores. Mas em *Allamanda*, *Himatanthus* e *Plumeria*, a porção dorsal das tecas apresenta um leve espessamento da parede celular da epiderme, mas que não se lignifica, podendo ser uma característica compartilhada entre estes três táxons. Para *Allamanda* acreditava-se que poderia existir lignificação, principalmente pela morfologia das anteras que são muito similares àqueles que possuem lignificação, como em *Tabernaemontana* e representantes de Apocynoideae (Endress & Bruyns 2000), mas as observações anatômicas confirmaram sua ausência.

Em Apocynaceae, a presença de nectário não é universal, sendo a sua ausência uma provável condição plesiomórfica (Endress *et al.* 1996 e Simões *et al.* 2007). Em Plumerieae apenas *Allamanda*, *Thevetia* e *Anechites* (Fallen 1983) apresentam anel nectarífero, podendo ser usado como caráter diagnóstico para estes gêneros. Já *Cameraria latifolia* apresenta tecido nectarífero formado pelo espessamento da parede do ovário na porção mais basal, como relatado anteriormente por Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007). Nas demais espécies analisadas, não foi encontrado qualquer estrutura que pudesse remeter a produção e liberação de néctar, como zona nectarífera na parede do ovário ou nectário extraflorais, como citados, por exemplo, por Woodson & Moore (1938), Rao & Ganguli (1963), Endress & Bruyns (2000) e Gomes (2006). O nectário anelar contornando o ovário já foi citado para outros gêneros do grado rauvolfioide, como *Rauvolfia* L. (Vinceae), *Tabernaemontana* L. (Tabernaemontaneae) e *Cyclocotyla* Stapf (Willughbeieae) (Woodson & Moore 1938, Allorge 1976, van der Ploeg 1985 e Simões *et al.* 2016), mas mesmo sendo anelar e circundando o ovário em *Allamanda* e *Thevetia*, o tipo de nectário é diferente entre eles. Em *Allamanda*, este anel é livre desde a base até o ápice, com cinco lobos apicais pouco evidentes ou bem definidos dependendo da espécie. Em *Thevetia*, por sua vez, a totalidade ou uma porção do anel nectarífero está adnata ao ovário, em diferente grau dependendo da espécie. Similaridade deste tipo de nectário foi visto em *Tonduzia longifolia* (A. DC.) Markgr. e *Neisosperma nakaianum* Raf. (tribo Vinceae), mas bem menos evidente por apresentarem os nectários em uma pequena porção na base do ovário (Simões *et al.* 2016). Allorge (1978) reportou nectário inteiramente incorporado ao ovário em *Ervatamia daemeliana* Domin (= *Tabernaemontana pandacacqui* Lam.), como visto em *Thevetia ahouai*. Estas diferenças encontradas em cada gênero tem um caráter taxonômico importante ao nível genérico e de espécies, que pode estar relacionada em duas origens nectaríferas distintas propostas para Apocynaceae: apendicular, por exemplo em *Mandevilla velame* (A. St.-Hil.) Pichon (Gomes 2006 e Gomes *et al.* 2008) ou receptacular, visto em *Macrosiphonia petraea* (A.St.-Hil.) Kuntze (= *Mandevilla petraea* (A.St.-Hil.) Pichon) (Galletto 1997). Ambos os tipos de origem são conhecidos para os representantes do grado rauvolfioide, como em *Vinca major* L., *Catharanthus roseus* (L.) G. Don e *Laxoplumeria* Markgr., formando dois lobos alternos aos ovários (Simões *et al.* 2007). A pentalobação do anel nectarífero, já foi sendo relatada para outros táxons de Apocynaceae por Galletto (1997) e Torres & Galletto (1998) que evidenciaram a ocorrência de nectários contínuos na porção basal, partindo-se para formar até cinco lobos na porção apical, como visto em espécies de

Mandevilla Lindl., *Temnadenia violacea* (Vell.) Miers, *Stipecoma peltigera* (Stadelm.) Müll. Arg. (Watanabe *et al.* 2009), *Forsteronia vellosiana* (A. DC.) Woodson, *Odontadenia lutea* (Vell.) Markgr., espécies de *Prestonia* R. Br. e *Rodhocalyx rotundifolius* Müll. Arg. (Koch 1994). Já a presença de um tecido nectarífero junto à parede do ovário, como visto em *Cameraria latifolia*, pode ser uma condição comum nas tribos do grado Rauvolfioide, visto que em muitos representantes observa-se uma diferença estrutural, principalmente em cortes anatômicos, na forma de um espessamento basal fortemente corado pela safranina, como visto em *Condylocarpon isthmicum* (Vell.) A.DC. e *Hancornia speciosa* Gomes (Gomes 2006), assim como reportado por Allorge (1976) para espécies atualmente pertencentes ao gênero *Tabernaemontana*, como *T. pandacqui* Poir, *T. coffeoides* Bojer ex A. DC., *T. calcarea* Pichon, *T. ciliata* Pichon, além de espécies de *Ochrosia* Juss. e *Kopsia* Blume. Diante dessas observações, podemos sugerir duas hipóteses da origem desta estrutura em Plumerieae. Em um primeiro cenário, um nectário anelar estava presente no ancestral comum de Plumerieae, sendo posteriormente perdido em Plumeriinae e em alguns membros de Thevetiinae. Em um cenário alternativo, nectários anelares teriam surgido de forma independente na tribo, possivelmente por vias ontogenéticas distintas. Anatomicamente, o nectário não apresenta variação estrutural entre as espécies, revelando que as características observadas estão de acordo com os relatos referidos na literatura para a família Apocynaceae, como os citados, por exemplo, por Woodson & Moore (1938), Walker (1975) e Toste *et al.* (2003).

A morfologia do gineceu fornece caracteres que têm sido tradicionalmente utilizados na taxonomia de Apocynaceae em diferentes níveis hierárquicos (ex., Jussieu 1789, De Candolle 1844, Woodson & Moore 1938, Pichon 1948b, 1950, Leeuwenberg 1994, Endress & Bruyns 2000 e Alvarado-Cárdenas & Ochoterena 2007). Woodson & Moore (1938) descreveram as espécies de Apocynaceae como portando ovário súpero, porém esta não é uma condição universal na família. Algumas espécies do grado rauvolfioide apresentam ovário semi-ínfero parcialmente imerso no receptáculo, como visto em representantes de Plumerieae (Endress & Bruyns 2000 e Alvarado-Cárdenas & Ochoterena 2007), como também relatado para *Couma* Aubl. e *Orthopichonia* H. Huber., ambos da tribo Willughbeieae (Monachino 1943, Vonk 1989). Os gêneros *Himatanthus*, *Mortoniella* e *Plumeria* apresentam parte do ovário imerso no receptáculo floral, sendo os únicos táxons de Plumerieae a apresentarem esta característica, sugerido por Pichon (1948b e 1950) e por Leeuwenberg (1994) como grupos relacionados. Alvarado-

Cárdenas & Ochoterena (2007) também utilizaram esta informação como sinapomorfia para agrupar estes gêneros na subtribo Plumeriinae. Outros padrões estruturais do gineceu também foram utilizados para caracterizar subfamílias e tribos, como a fusão carpelar citada por Jussieu (1789) e o número de lóculos do gineceu empregado por De Candolle (1844). Uma das características de Apocynaceae é a predominância de dois carpelos livres, contudo, hemissincarpia e sincarpia também estão presentes em representantes desta família, especialmente no grado rauvolfioide (Koch *et al.* 2002, Gomes 2006 e Endress *et al.* 2007). Em Plumerieae, a apocarpia não é condição predominante entre os gêneros. Seus representantes variam de apocárpicos, hemissincárpicos a sincárpicos, condição esta bem estável entre os gêneros ou mesmo entre subtribos, apresentando alto potencial diagnóstico. Neste trabalho consideramos hemissincárpicos os ovários dos gêneros *Himatanthus*, *Plumeria*, *Mortoniella*, *Skytanthus* e *Thevetia*, pela observação, em corte anatômico, de fusão basal entre os carpelos. Este resultado difere do proposto por Alvarado-Cárdenas & Ochoterena (2007), que consideraram o ovário dos quatro primeiros gêneros aqui citados como apocárpicos. *Allamanda* apresenta sincarpia, como visto em *Carissa carandas* e em outros representantes do grado rauvolfioide, mas de origem diferente. Segundo Fallen (1985), *Allamanda* apresenta sincarpia pós-gênita, já em outros representantes de Apocynaceae, como *Carissa carandas*, a sincarpia é congênita uma vez que os primórdios carpelares estão fusionados desde o início do desenvolvimento. Fahn (1990) e Weberling (1992) descreveram estes dois padrões de fusão carpelar, expondo a fusão congênita como sendo o desenvolvimento do carpelo a partir de um anel contínuo e a pós-gênita como primórdios carpelares que originam-se livres no receptáculo floral, mas se fusionam ao longo do desenvolvimento floral. Os demais gêneros de Plumerieae (*Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Cerbera* e *Cerberiopsis*) são apocárpicos. Estudos filogenéticos sugerem que a apocarpia, presente nestes gêneros, é condição plesiomórfica em Apocynaceae, a partir da qual a sincarpia do tipo congênita e pós-gênita evoluíram de forma convergente repetidas vezes, especialmente no grado rauvolfioide. Este padrão já havia sido proposto, embora de forma pouco conclusiva, por Potgieter & Albert (2001) e foi melhor explorado por Simões *et al.* (2007) e Fishbein *et al.* 2018. Na tribo a hemissincarpia está mais condicionada às estruturas que rodeiam e se fusionam ao ovário, como nectário em *Thevetia* e o hipanto em Plumeriinae, sendo difícil detectar uma tendência evolutiva na tribo.

A anatomia da epiderme externa do ovário, com células contendo citoplasma de aspecto denso e idioblástos, também trazem importantes contribuições na taxonomia de

Plumerieae. Apenas *Himatanthus* apresenta epiderme supostamente secretora, mas sua função é desconhecida. Idioblastos secretores próximos a linha de deiscência dos carpelos foram observados apenas em *Himatanthus*, *Cerberiopsis neriifolia* e *Skytanthus*, e idioblastos secretores dispersos no parênquima ovariano foram registrados para *Thevetia bicornuta*, *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Himatanthus* e *Skytanthus*. Esta não é uma condição exclusiva de Plumerieae, sendo encontrado, por exemplo, em espécies de Carisseae e Willughbeieae, como *Carissa carandas*, *Acokanthera oppositifolia* (Lam.) Codd, *Acokanthera spectabilis* (Sond.) Hook. f., *Lacmellea lactescens* (Kuhlm.) Markgr., *Landolphia kirkii* Dyer., *Landolphia incerta* (K. Schum.) J. Pers., *Landolphia owariensis* P. Beauv. e *Saba comorensis* (Bojer ex A. DC.) Pichon (observação de laminário). *Allamanda* é o único gênero a não apresentar idioblastos secretores no ovário ou em qualquer outra estrutura floral. Esta ausência pode representar uma sinapomorfia para este gênero, já que a tribo mostrou ter grande amplitude na distribuição de idioblastos secretores em diferentes estruturas em seus representantes. Alguns autores, como Appezzato-da-Glória & Estelita (2000) e Rio *et al.* (2005), identificaram compostos fenólicos nos idioblastos secretores, o que seria importante de confirmar nos representantes de Plumerieae. A presença desses compostos fenólicos pode estar relacionada à defesa da planta contra o ataque de herbívoros e o crescimento de fungos, pois são substâncias adstringentes e tóxicas (Bruneton 1999), contudo estudos futuros, principalmente histoquímicos, necessitam ser feitos para admitir estas suposições.

O número de óvulos por carpelo também é variável dentro da tribo. Este caráter foi utilizado por Alvarado-Cárdenas & Ochoretena (2007) para o estudo das espécies do complexo *Cascabela-Thevetia*. Esta variação se resume em três tipos: 1) presença de muitos óvulos por carpelos, encontrado em *Himatanthus*, *Mortoniella*, *Plumeria*, *Allamanda* e *Skytanthus*; 2) quatro óvulos em *Cameraria latifolia*, *Cerbera* e *Cerberiopsis*; e 3) dois óvulos em *Thevetia*. Esta variação é constante dentro dos gêneros e, segundo Alvarado-Cárdenas & Ochoretena (2007), parece representar uma tendência de redução no número de óvulos em Plumerieae. Além da variação numérica dos óvulos, também foram encontradas epiderme secretora no tegumento externo do óvulo em *Cerbera*, *Cerberiopsis candelabra*, *Himatanthus* e *Skytanthus*, o que precisa ser melhor investigado para determinar a composição desta secreção e sua possível função.

A união congênita ou pós-gênita dos carpelos em Apocynaceae origina a cabeça do estilete, um espessamento no ápice do estilete que pode ter forma variada, com ápice inteiro ou mais comumente, possuindo dois apêndices livres (Endress *et al.* 1983). Uma

progressão evolutiva em relação aos tipos estruturais da cabeça do estilete dentro da família Apocynaceae foi hipotetizada por Fallen (1986), variando das formas morfolologicamente mais simples, totalmente recobertas por uma camada de tricomas secretores e sem adnação a qualquer verticilo floral, a partir da qual surgiram formas morfolologicamente mais complexas, com diferentes graus de compartimentalização, organização e sinorganização. Estas variações estruturais da cabeça do estilete fornecem um número substancialmente grande de caracteres diagnósticos com relevância na sistemática. Em Plumerieae, observamos três padrões de diferenciação da cabeça do estilete. Em *Mortoniella*, a cabeça do estilete ovoide, indiferenciada, com corpo principal recoberto por tricomas secretores (Walker 1975, Fallen 1983, 1986), sendo receptivo em toda sua extensão aos grãos de pólen (Fallen 1986, Endress 1994 e Koch *et al.* 2002). Este tipo morfológico simples é comum em representantes do grado rauvolfioide, visto em representantes tanto das tribos mais basais, como Aspidospermeae, Tabernaemontaneae e Willughbeieae, quanto nas tribos mais derivadas, como Carisseae (Fallen 1986 e Simões *et al.* 2007). Provavelmente esta semelhança seja um caráter homoplásico porque está presente em tribos completamente distintas, a partir da simplificação morfológica de cabeças do estilete com algum grau de diferenciação (Simões *et al.* 2007). Em *Himatanthus* e *Plumeria*, já é possível observar uma leve diferenciação da cabeça do estilete, apresentando um formato cilíndrico a obovado e um anel apical pouco conspícuo, mas o corpo inteiramente secretor e provavelmente receptivo em toda sua extensão, como reportado por Spina (2003). Em *Allamanda* e *Cerberiopsis neriifolia*, a morfologia da cabeça do estilete é similar, com o corpo principal diferenciado em formato de “carretel”, apresentando apêndices apicais bem desenvolvidos (principalmente em *Cerberiopsis neriifolia* nos quais são fusionados na porção basal), um anel apical, particularmente desenvolvido em *Allamanda*, uma região secretora bastante extensa e um anel basal conspícuo com região receptiva provavelmente abaixo deste. A morfologia de *Skytanthus hancorniiifolius* é bem particular por sofrer redução de sua estrutura secretora, expandindo a porção do estilete logo abaixo do anel basal que influenciou no formato fusiforme da cabeça do estilete nesta espécie. Nos demais táxons de Thevetiinae a cabeça do estilete apresenta maior complexidade estrutural. O corpo principal é cônico a cônico-cilíndrico e provido de apêndices apicais maiores e fusionados na base. Em *Thevetia*, o anel apical e basal é formado por grandes expansões parenquimáticas e tricomas, além da fusão com a corona estaminal observada em *Thevetia ovata*, assim como em *Cerbera manghas*. Mas o que se observa nestes gêneros de Thevetiinae (exceto *Cerberiopsis*), é uma redução significativa da região

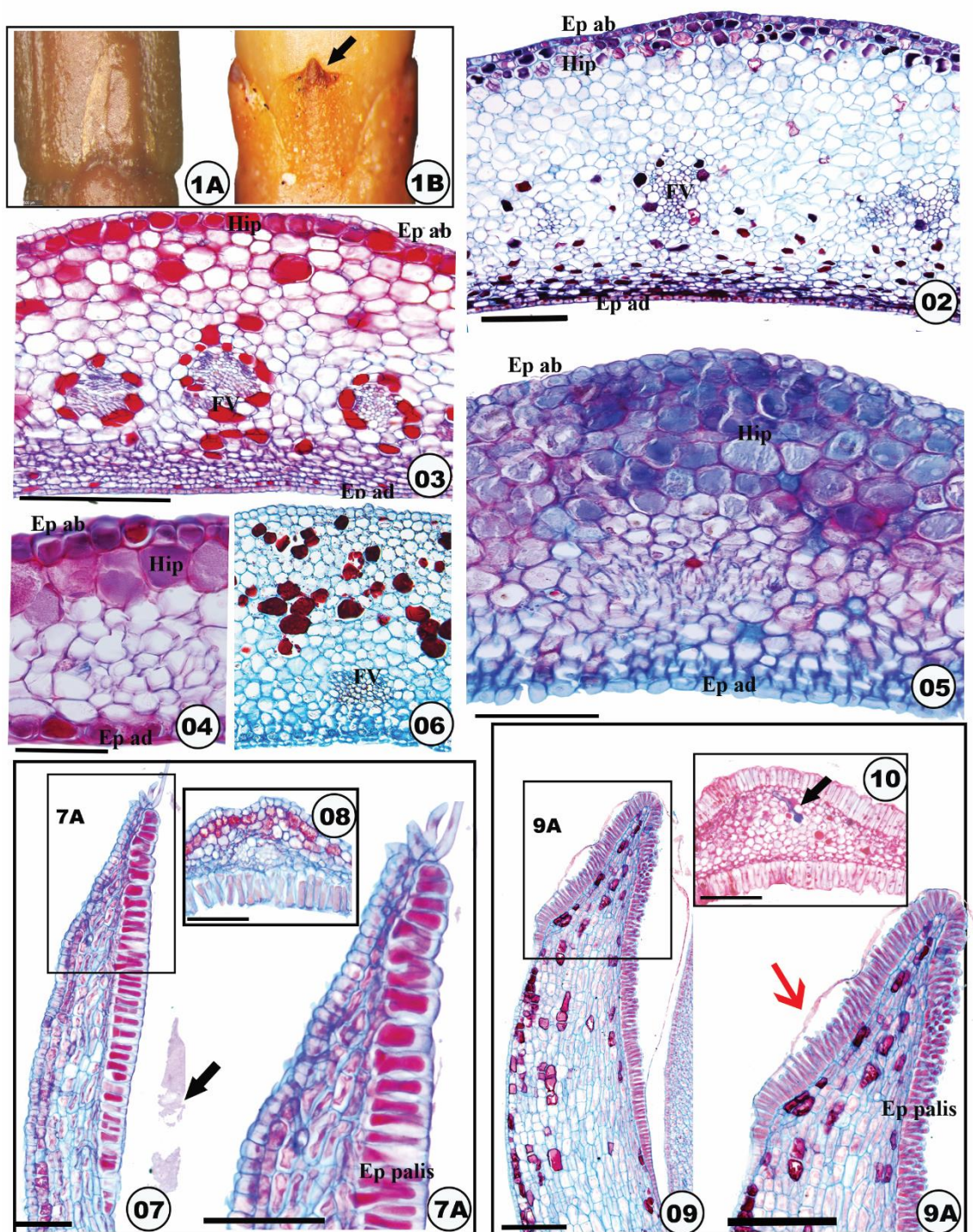
secretora e a diminuição das estruturas que formam o anel basal e apical (exceto *Thevetia*), chegando a ausência completa do anel basal em *Cerbera odollam*, além de um aumento do tamanho dos apêndices apicais. Assim, nossos resultados sugerem uma provável tendência em Thevetiinae de aumento de complexidade estrutural da cabeça do estilete, com redução da região secretora e de outras estruturas que compõem a cabeça do estilete, com exceção dos apêndices apicais que são proporcionalmente maiores. Porém, dentro da tribo, a morfologia da cabeça do estilete, mesmo com semelhanças entre determinados gêneros, tem sua particularidade em cada espécie e/ou nos gêneros analisados.

Em nenhum dos representantes de Plumerieae estudados observamos a presença de retináculo estaminal, como proposto na literatura, conectando tecido das anteras à cabeça do estilete para a formação de um ginostégio (Endress & Bruyns 2000 e Simões *et al.* 2007). A ausência de ginostégio é característica do grado rauvolfioide (Endress & Bruyns 2000) e, mesmo sendo reportada por Allorge (1976) e, mais recentemente, Gomes (2006) para *Allamanda*, não foi encontrado nenhum indício que leve a tal suposição. O que ocorre é aderência entre os tricomas infraestaminais com os tricomas do anel apical pela deposição da secreção liberada pelos tricomas secretores da cabeça do estilete em *Allamanda*. E, em *Cerbera manghas* e *Thevetia ovata*, a adnação ocorre, mas é entre a corona estaminal e a porção epidérmica abaixo do anel basal da cabeça do estilete, reportando a mesma funcionalidade no processo de polilização que é referido para o ginostégio.

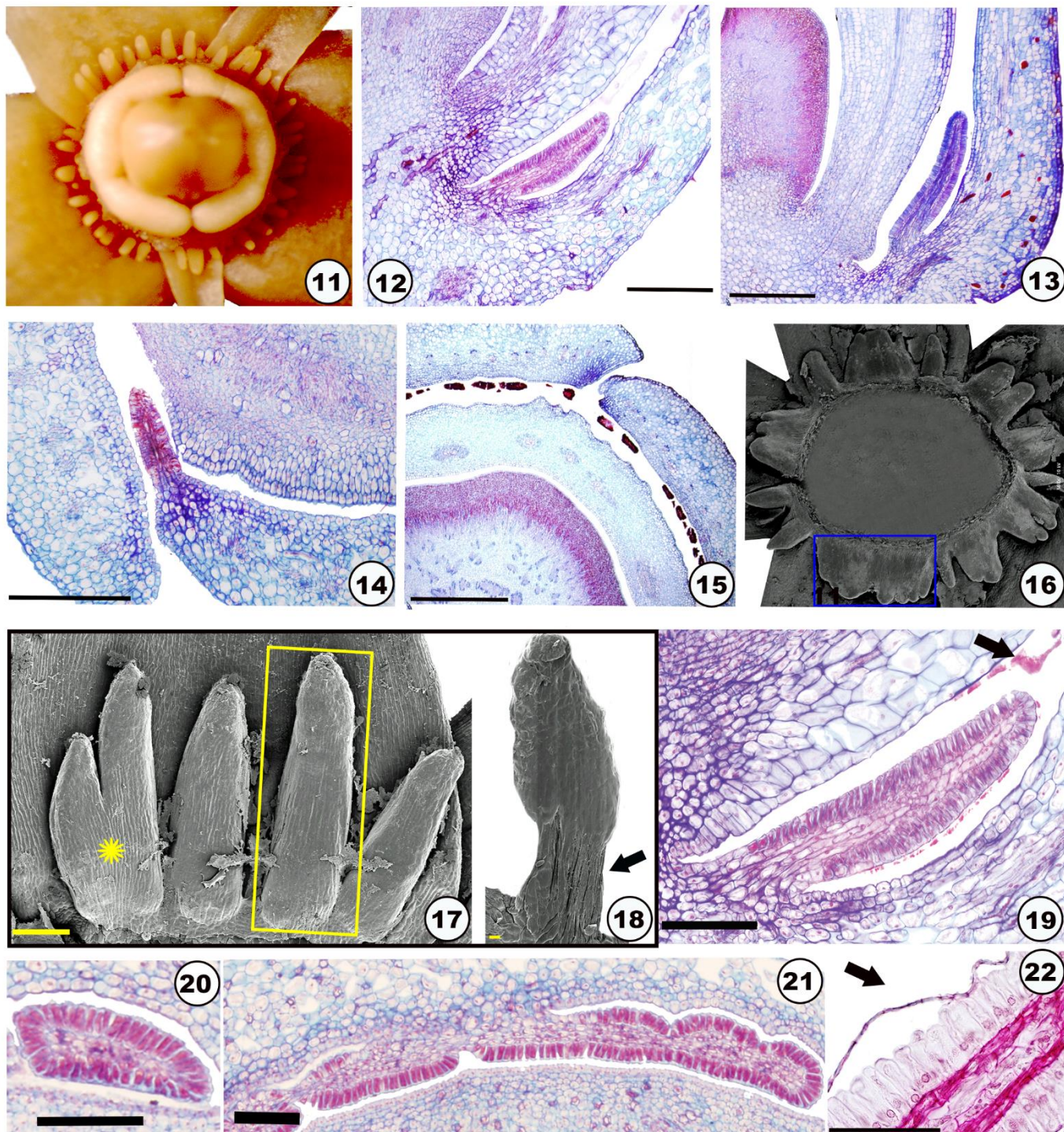
Mesmo a cabeça do estilete distinta entre os táxons, anatomicamente o anel apical é sempre formado por tricomas, com ou sem leve expansão parenquimática e o anel basal por células epidérmicas justapostas, que podem estar acompanhadas de projeções parenquimáticas. Os apêndices apicais são formados por epiderme não secretora e tecido parenquimático fundamental. A epiderme é variável quanto ao formato das suas células, predominando as células papilosas, encontradas em *Anechites*, *Cameraria latifolia*, *Cerbera*, *Cerberiopsis candelabra*, *Allamanda puberula* e *Thevetia*. Em *Mortoniella*, a epiderme apresenta tricomas unicelulares, e idioblastos secretores foram visualizados na epiderme em *Skytanthus*. Feixes vasculares não ocorrem em toda extensão dessa estrutura, ficando restrito a região basal e mediana desses apêndices apicais.

CONCLUSÃO

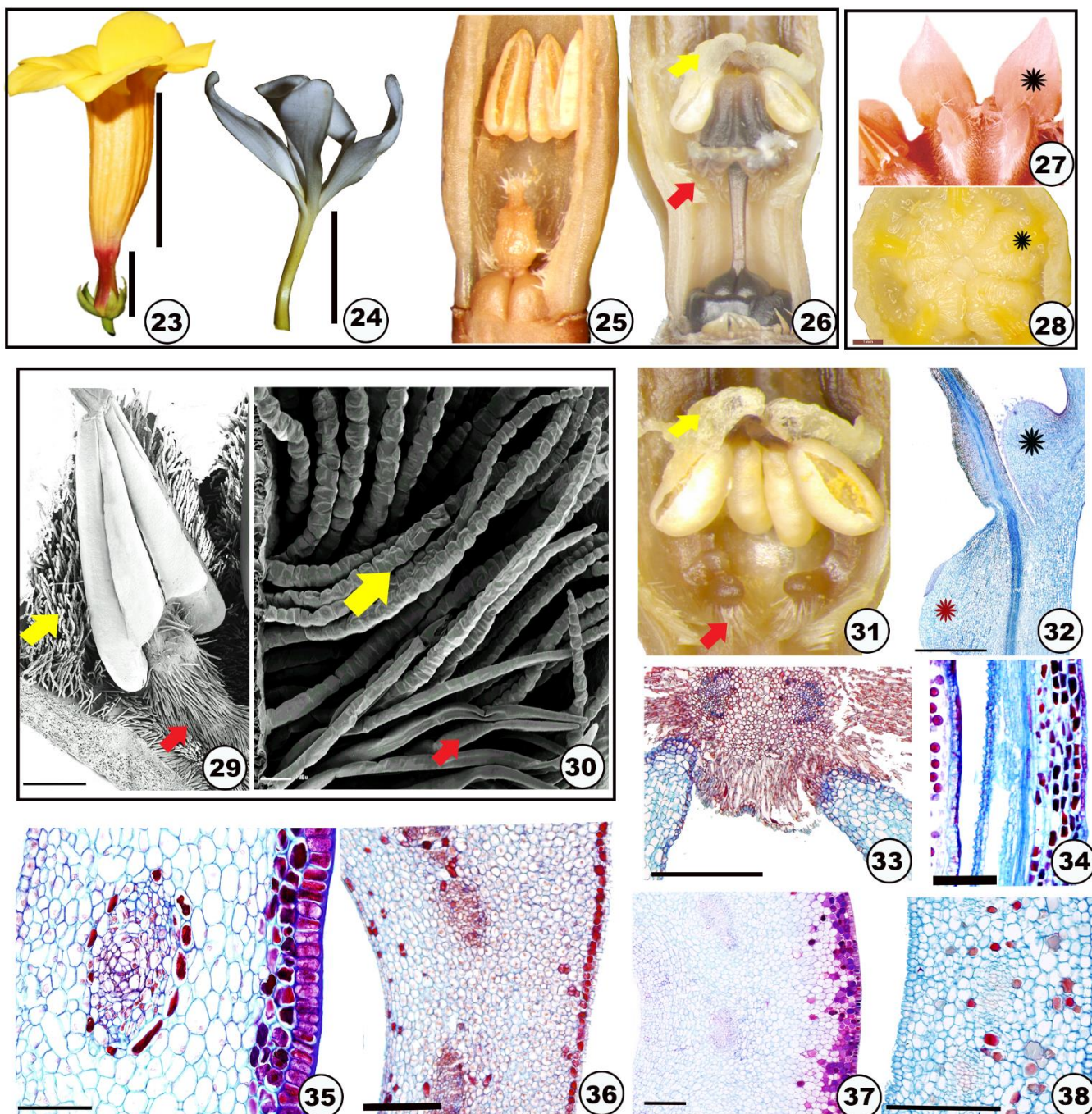
As características florais de Plumerieae são muito informativas, com uma enorme variedade morfológica e anatômica, que propicia estabelecer relações entre subtribos e gêneros, e mesmo delimitar gênero e espécies. As três subtribos de Plumerieae reconhecidas por Endress *et al.* (2014) podem ser diagnosticadas por características morfoanatômicas da flor, e a presença de idioblastos secretores abundantes (ausentes apenas em *Allamanda*) parece ser uma sinapomorfia para Plumerieae. A presença e organização de idioblastos secretores nas lacínias do cálice e na corola, coléteres calicinais, morfologia e deiscência das anteras, presença/ausência de coronas supra e infrastaminais, nectários e suas variações morfológicas e anatômicas, grau de fusão e posição do ovário, variação no número de óvulos, morfologia e anatomia da cabeça do estilete, são os principais caracteres diagnósticos detectados. A presença de coléteres calicinais no ápice das lacínias, é exclusiva de *Mortoniella*, *Plumeria* e *Anechites*, apresentando padrão anatômico similar ao de coléteres descrito na literatura. A deiscência de anteras em Thevetiinae é interpretada como latrorsa, e em Allamandinae e Plumerinae como introrsa. A fusão pós-gênita dos apêndices das anteras e fusão da corona estaminal com a cabeça do estilete em *Cerbera manghas* e *Thevetia ovata*, sugerida por outros autores, é aqui confirmada. A subtribo Plumeriinae, *Skytanthus* e *Thevetia* possuem ovário hemissincárpico, discordando da condição apocárpica citada na literatura. A ausência de estruturas nectaríferas, como encontrado em *Cameraria latifolia*, é confirmada para aqueles gêneros que não possuem anel nectarífero. Ainda há alguns objetivos a serem alcançados, como a realização de testes histoquímicos em idioblastos secretores e coléteres para uma possível comparação dentro de Plumerieae, e análise dos tricomas corolinos em microscopia eletrônica de varredura, além de estudos de ontogenia floral para os representantes das três subtribos.



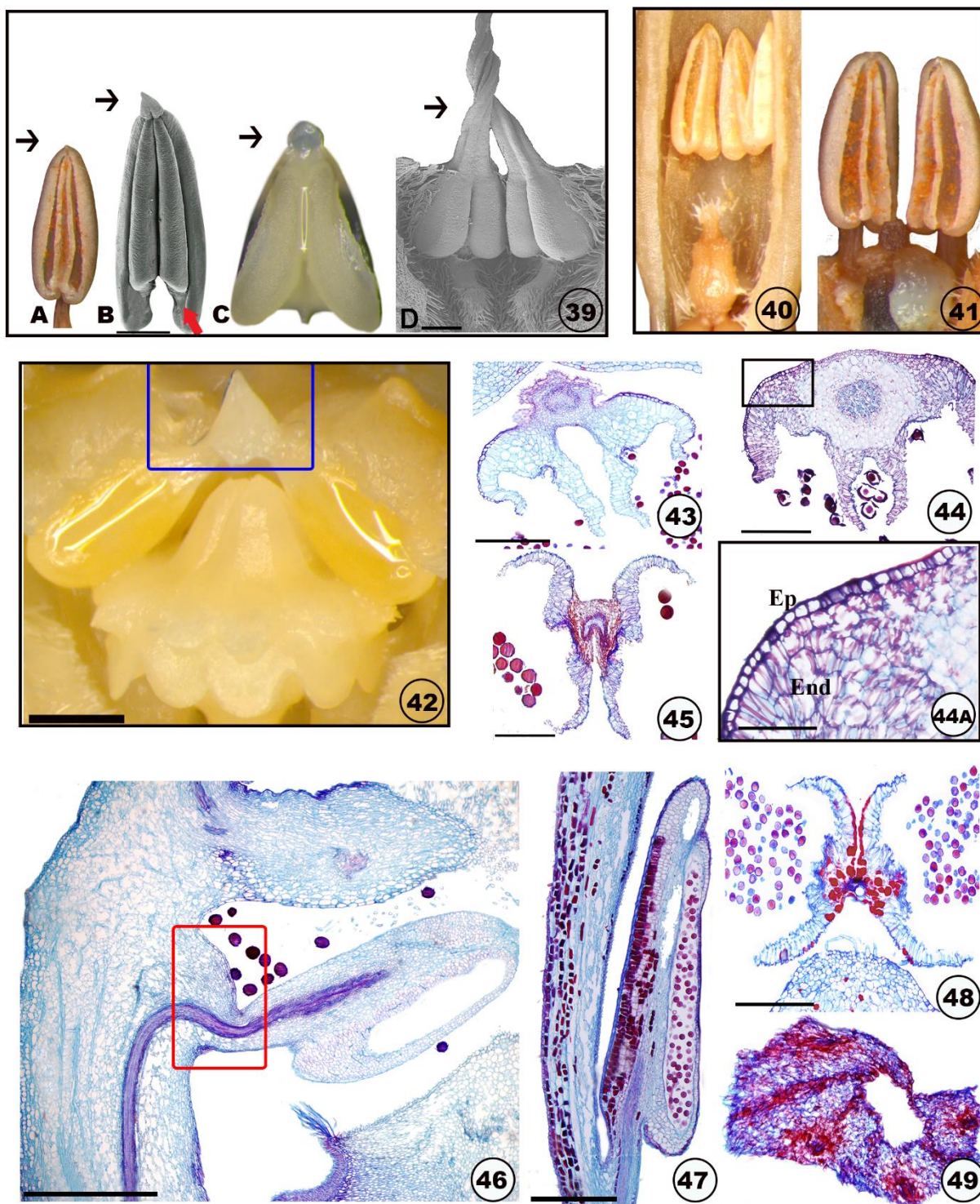
Figuras 1A-10. Morfologia e Anatomia do cálice em Plumerieae (Apocynaceae). 1A-1B: Morfologia do cálice. 02-05, 08 e 10: Secções transversais do cálice. 07, 09 e 09A: Secções longitudinais do cálice. 02, 04 e 05: epiderme secretora. 03 e 04: uma camada de hipoderme. 02: duas camadas de hipoderme. 05: camadas indeterminada da hipoderme. Observe os idioblastos secretores proximos aos feixes vasculares (02 e 03), dispersos estocasticamente pelo parenquima (06) e próximos as epidermes abaxial e adaxial (02 e 03). Coléter calicinal em *Mortoniella pittieri* (07-08): 7A, foto em maior aumento da epiderme em paliçada com conteúdo secretor e 08, vista do coléter em corte transversal. Coléter calicinal em *Plumeria rubra* (09-10). 9A, foto em maior aumento da epiderme em paliçada com conteúdo secretor e distensão da cutícula (seta) e 10, vista do coléter em corte transversal. 1A (*Himatanthus articulatus*); 1B (*Plumeria rubra*); 02 (*Cerbera odollam*); 03 (*Cerberiopsis neriifolia*); 04 (*Himatanthus* sp.); 05 (*Skytanthus hancorniiifolius*); 06 (*Cameraria latifolia*). Ep ab: epiderme abaxial; Ep ad: epiderme adaxial; FV: feixe vascular; Hip: hipoderme; Ep palis: epiderme em paliçada; setas pretas: secreção (fig 07) e laticífero (fig. 10); seta vermelha: distensão da cutícula. 1A e 1B: 1 mm; 02, 03 e 05: 100µm; 04, 06, 07, 7A, 09 e 09A: 50 µm; 08 e 10: 20 µm.



Figuras 11-22: morfologia e Anatomia dos coléteres calicinais em *Allamanda* e *Thevetia* (Apocynaceae). 11: vista geral dos coléteres na base do cálice. 16, 17 e 18: MEV. 14, 15, 20 e 21: secções transversais. 12, 13, 19 e 22: secções longitudinais. 11-13; coléteres na base das lacínias; 14 e 18: coléteres alternos; 11 e 15: coléteres opostos; 16: coléteres contínuos; 18: coléteres tipo “puberula”. 17: coléter tipo Standart (retângulo amarelo) e bifurcado (asterisco); 16 e 21: coléteres fusionados (retângulo azul). 19: vista geral do coleter com base não secretora e corpo secretor. 20: compressão dorsiventral do coléter. 22: distensão da cutícula (seta). 12, 16, 19-21 (*Allamanda schottii*); 13 e 15 (*Thevetia peruviana*); 14 e 18 (*Allamanda puberula*) 11, 17 e 22 (*Allamanda laevis*). 16: 1mm; 12, 13 e 15: 200µm; 14, 17, 19 e 21: 100 µm; 20: 50 µm; 22: 20 µm e 18: 10 µm.

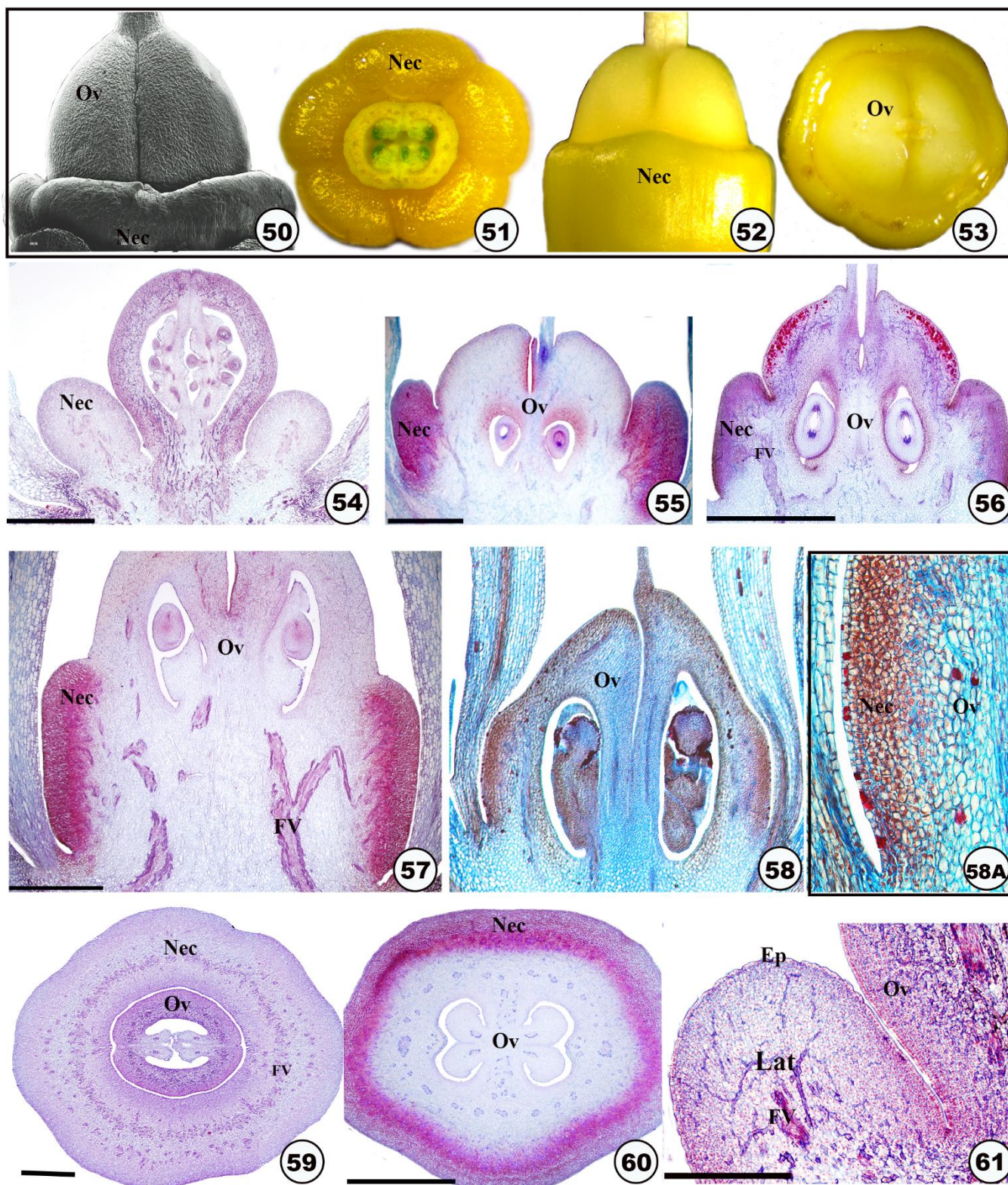


Figuras 23-38: Morfologia e Anatomia da corola em Plumerieae e em *Carissa carandas* (Apocynaceae). 23 e 24: morfologia da corola; 23 (infundibuliforme, com duas porções (barras)) e 24 (hipocrateriforme). 25, 26 e 31: morfologia da porção interna da corola; 25, tricomas infraestaminais; 26 e 31, tricomas e coronas infra e supraestaminais. 27 e 28: corona corolína. 29 e 30: MEV dos tricomas que formam a corona (seta amarela) e os tricomas infraestaminais (seta vermelha). 33: fusão entre corona estaminal e a cabeça do estilete. 34, 35 e 37: epiderme secretora. 34, 35 e 37: hipoderme com mais de uma camada, 36: hipoderme com uma camada. 35 e 36: idioblastos secretores próximos aos feixes vasculares. 36: e 37: idoblastos secretores próximos à epiderme abaxial e adaxial. 38: idioblastos secretores distribuídos estocasticamente pelo parênquima. Asterísco vermelho (corona estaminal); asterísco preto (corona corolína). 23 (*Allamanda schottii*); 24 e 37 (*Himatanthus* sp.); 25 (*Mortoniella pittieri*); 26 e 31 (*Thevetia bicornuta*); 27, 29 e 30 (*Allamanda cathartica*), 28 e 32 (*Thevetia ahouai*); 33 (*Cerbera manghas*); 34 (*Carissa carandas*); 35 (*Cerbera odollam*); 36 (*Cerberiopsis nerifolia*) e 38 (*Skytanthus hancornifolius*). 28 e 29: 1mm; 32, 33 e 37: 200 μ m; 30, 36 e 38: 100 μ m; 34 e 35: 50 μ m.

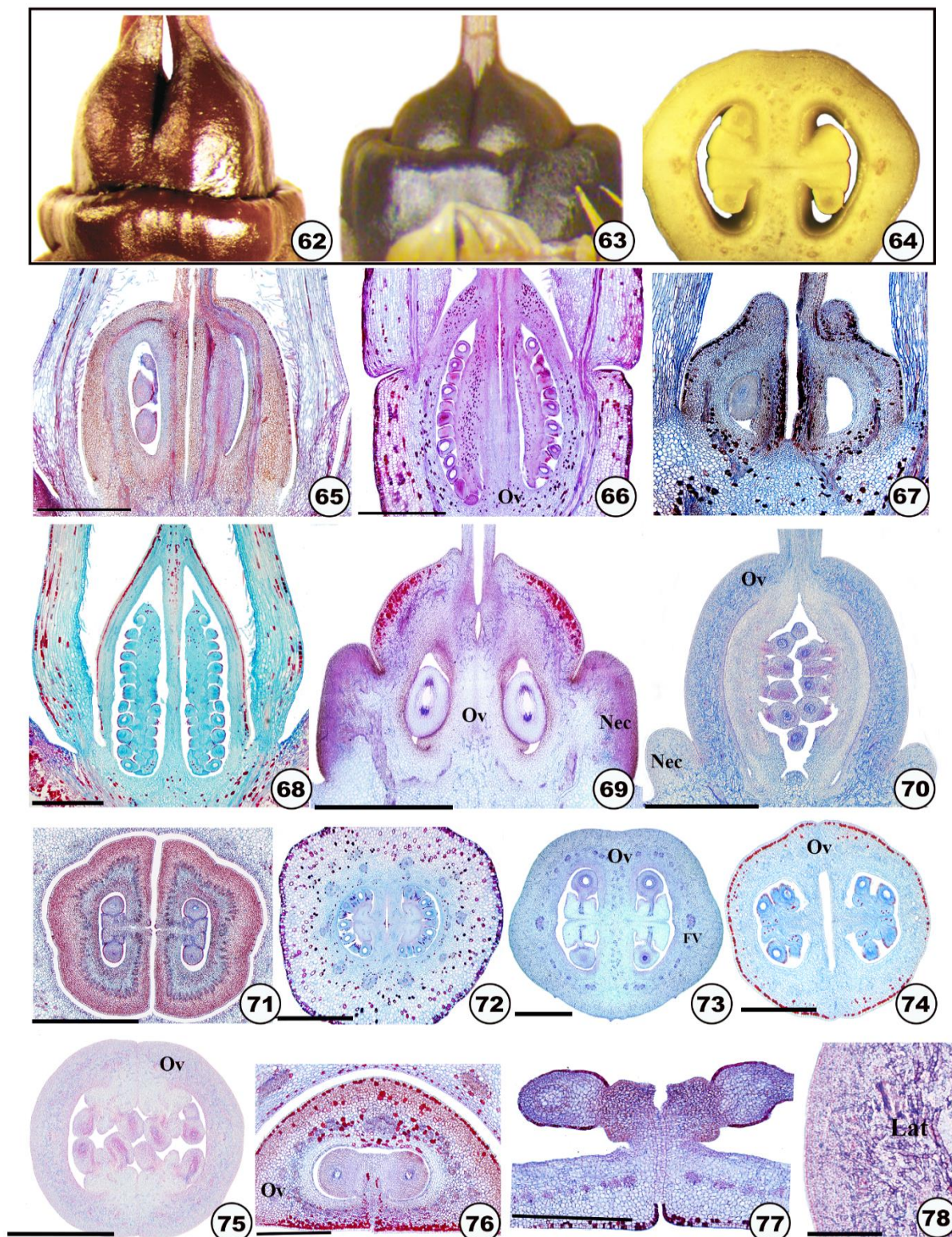


Figuras 39A-49: Morfologia e Anatomia do androceu em Plumerieae e em *Carissa carandas* (Apocynaceae).

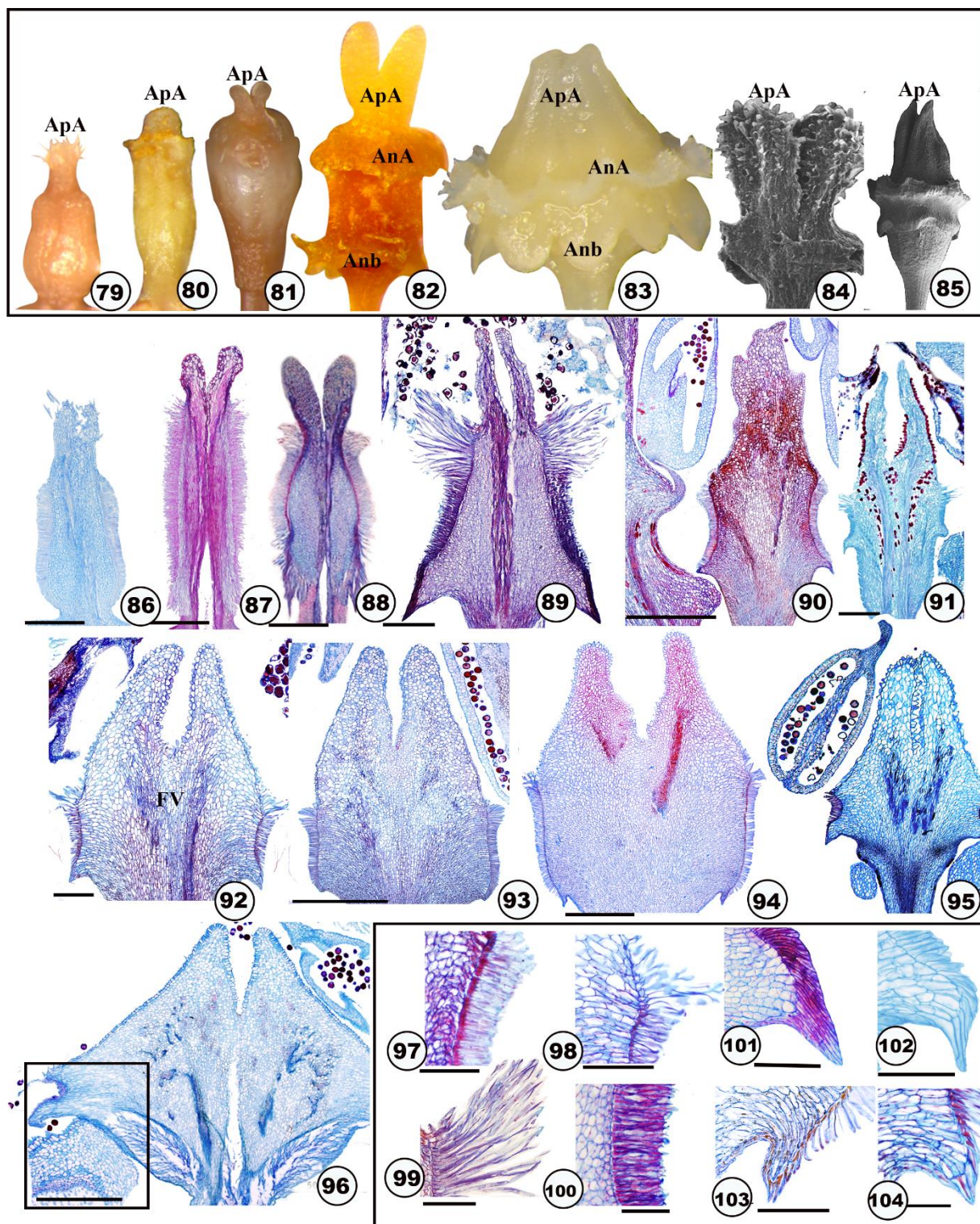
39A-39D: vista geral da morfologia das anteras, mostrando as diferenças morfológicas entre os gêneros. 40-42: vista geral da posição das anteras sobre a cabeça do estilete. 42 e 49: fusão entre os apêndices apicais das anteras. 43-45, 48 e 49: secções transversais. 46 e 47: secções longitudinais. 43, 44: deiscência introrsa, e 45 e 48: deiscência latrorsa. 44A: maior aumento da fig. 44, evidenciando a epiderme e o endotécio com as barras de espessamento secundário. 46: estrutura de suporte das anteras, *rib* (quadrado vermelho). 47: filete sustentando a antera. 47 e 48: idioblastos secretores nas anteras. 49: corte transversal da região fusionada das anteras. 39A, 41 e 43 (*Plumeria pudica*); 39B, 44 e 44A (*Allamanda schottii*); 39C e 46 (*Thevetia ahouai*); 39D e 48 (*Skytanthus hancorniiifolius*); 40 (*Mortoniella pittieri*); 42 (*Thevetia ovata*); 47 (*Carissa carandas*) e 49 (*Cerbera manghas*). Seta preta apêndices apicais das anteras; seta vermelha: apêndices basais da antera; retângulo azul: fusão das anteras. Ep: epiderme; End: endotécio. 39B: 1mm; 39D, 42 e 46: 500 µm; 43-45, 47 e 48: 200 µm; 49: 100 µm e 44A: 50 µm.



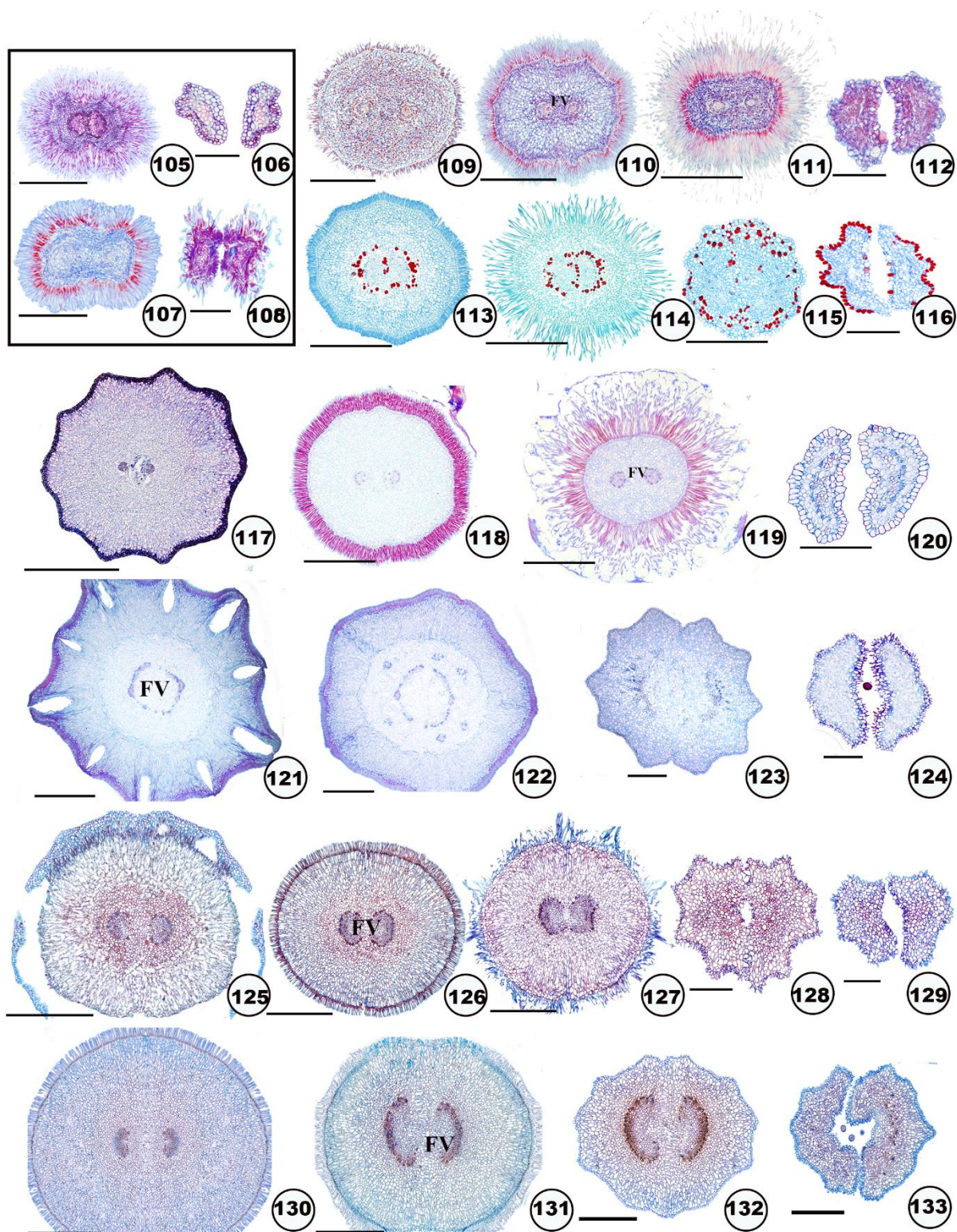
Figuras 50-61: Morfologia e Anatomia do nectário em Plumeriaceae (Apocynaceae). 50-53: vista geral dos nectários. 54-58A e 61: secções longitudinais e; 59 e 60: secções transversais. 58: vista em maior aumento do tecido nectarífero na parede do ovário. 61: vista em maior aumento, evidenciando a epiderme, parênquima e laticíferos do anel nectarífero. 54 e 59: anel nectarífero livre do ovário em *Allamanda*; e 55-57 e 60: observe a fusão dos nectários em diferentes graus à região do ovário em *Thevetia*. 50 e 61 (*Allamanda cathartica*); 51, 54 e 59 (*Allamanda schottii*); 52, 53, 57 e 60 (*Thevetia ahouai*); 55 (*Thevetia peruviana*); 56 (*Thevetia bicornuta*); 58 e 58A (*Cameraria latifolia*). Ep: Epiderme; Lat: laticífero; Nec: nectário; OV: ovário; FV: feixe vascular. 54-56, 59 e 60: 500 µm; 57 e 61: 200 µm.



Figuras 62-78: Morfologia e Anatomia do ovário em Plumerieae (Apocynaceae). 62-64: morfologia geral do ovário. 65-70 e 78: secções longitudinais; e 71-77: secções transversais. 62, 63, 65, 67 e 70: ovário súpero; 66: ovário semi-ínfero. 70 e 75: ovário sincápico; 66, 68, 70, 72 73: ovário hemissincárpico; e 65 e 67: ovário apocárpico. 66, 69 e 76: idioblastos secretores dispersos pelo parênquima, subepidérme e paralelos à linha de deiscência. 77: maior aument, evidenciando da linha de deiscência e os idioblastos secretores. 78: maior aumento do tecido ovariano, evidenciando os laticíferos. 62-64 e 73 (*Thevetia* spp.); 65 e 71 (*Cerbera manghas*); 66 e 72 (*Himatanthus bracteatus*); 67 e 76 (*Cerberiopsis neriifolia*); 68 e 74 (*Skytanthus hancorniiifolius*); 70, 75 e 78 (*Allamanda* spp.); 77 (*Cerbera odollam*). Lat: laticíferos; Nec: nectário; OV: ovário; FV: feixe vascular. 65, 66, 69, 70, 72-75: 500µm; 68, 71, 76, 77: 200 µm; 78: 100 µm

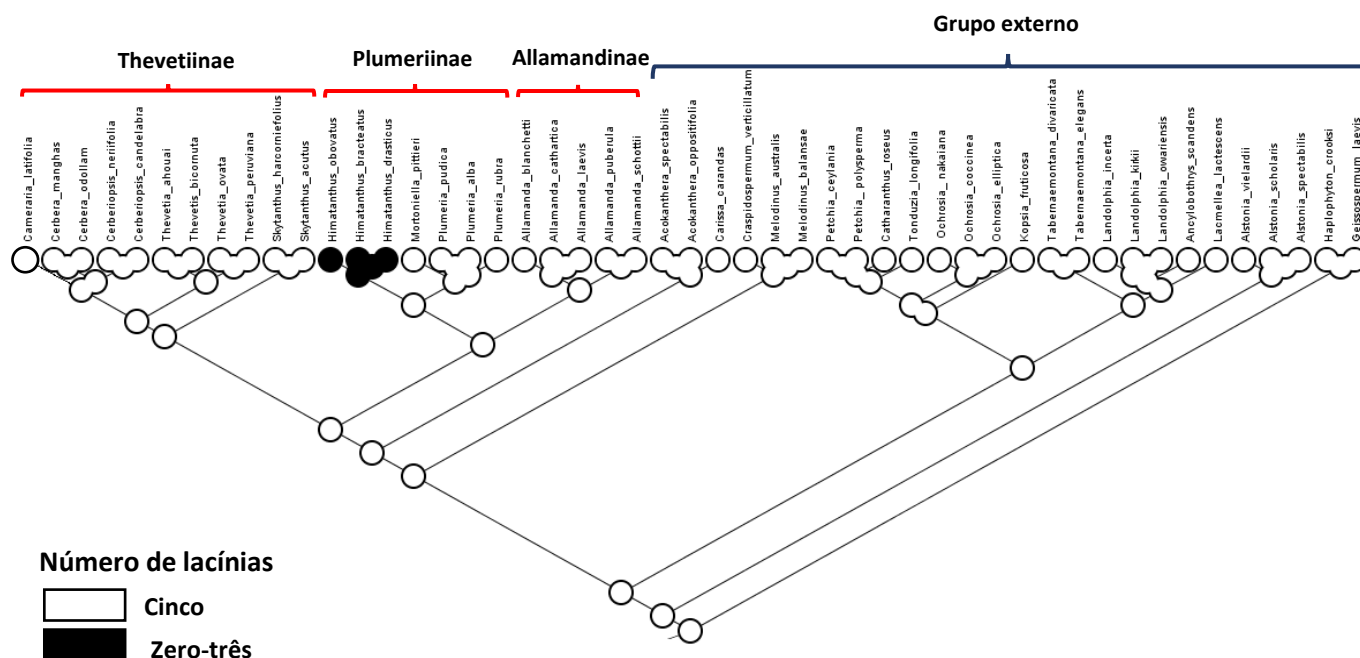


Figuras 79-104: Morfologia e Anatomia da cabeça do estilete em Plumerieae (Apocynaceae). 79-85: vista geral dos diferentes tipos morfológicos da cabeça do estilete. 86-104: secções longitudinais. 97-99: maior aumento, evidenciando os anéis apicais; 100: maior aumento dos tricomas secretores; e 101-104: maior aumento dos anéis basais, evidenciando as células epidérmicas justapostas. 96: fusão entre coroa estaminal e a cabeça do estilete (retângulo preto). Anb: anel basal; AnA: anel apical; ApA: apêndice apical; FV: feixe vascular. 79 e 86 (*Mortoniella pittieri*); 80 e 87 (*Himatanthus* spp); 81 e 88 (*Plumeria pudica*); 82, 88, 99 e 101 (*Allamanda cathartica*); 83 (*Thevetia ahouai*); 84 (*Anechites nerium*); 85, 91 e 102 (*Skytanthus hancorniiifolius*); 90 e 97 (*Cerberiopsis neriifolia*); 92, 98 e 104 (*Cerbera manghas*); 93 (*Cerbera odollam*); 94 e 103 (*Cerberiopsis candelabra*); 95 (*Cameraria latifolia*); e 96 (*Thevetia ovata*). 90, 93, 94 e 96: 500 µm; 89, 92 e 98: 200 µm; 86-88, 91, 97, 99, 101, 103 e 104: 100 µm e 100: 50 µm.

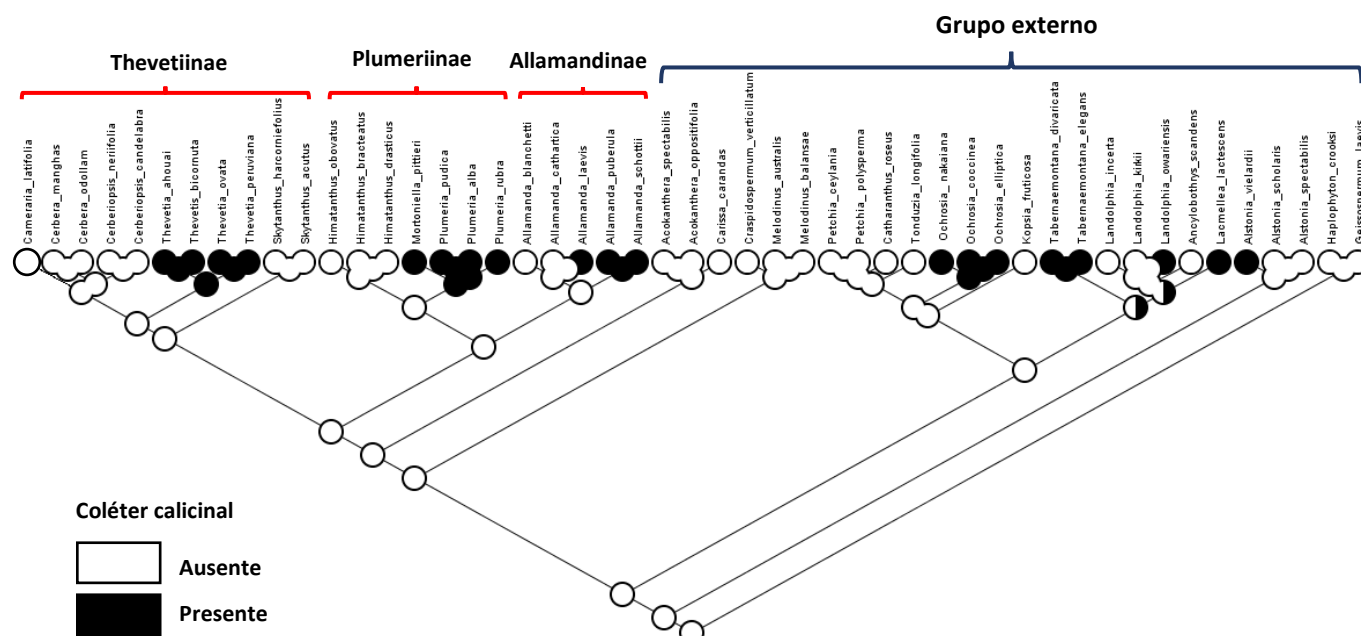


Figuras 105-133: Anatomia da cabeça do estilete em *Plumeria* (Apocynaceae). 101-133: secções transversais da cabeça do estilete. 106, 108, 112, 115, 116, 120, 123, 124, 128, 129, 132 e 133: apêndices apicais da cabeça do estilete. 105, 111, 114, 119, 127 e 131: anéis apicais. 107, 110, 113, 118, 122, 126 e 130: regiões secretoras. 117, 121 e 125: anéis basais. 121: observe as projeções parenquimáticas do anel basal. 115, 123, 128 e 132: apêndices apicais fusionados. 113-116: idioblastos secretores na epiderme e no parênquima. Observe os dois feixes vasculares concêntricos em todos os cortes, exceto na porção mais apical dos apêndices apicais. 105 e 106 (*Himatanthus obovatus*); 107-108 (*Mortoniella pittieri*); 109-112 (*Plumeria pudica*); 113-116 (*Skytanthus hancorniiifolius*); 117-120 (*Allamanda cathartica*); 121-124 (*Thevetia ahouai*); 125-129 (*Cerbera manghas*); 130-133 (*Cerberiopsis candelabra*). 117, 121, 122, 125-127, 130-133: 500 µm; 105, 107, 109-111, 113-115, 118, 119, 123, 124, 128 e 129: 200 µm; 106, 108, 112, 116 e 120: 100 µm.

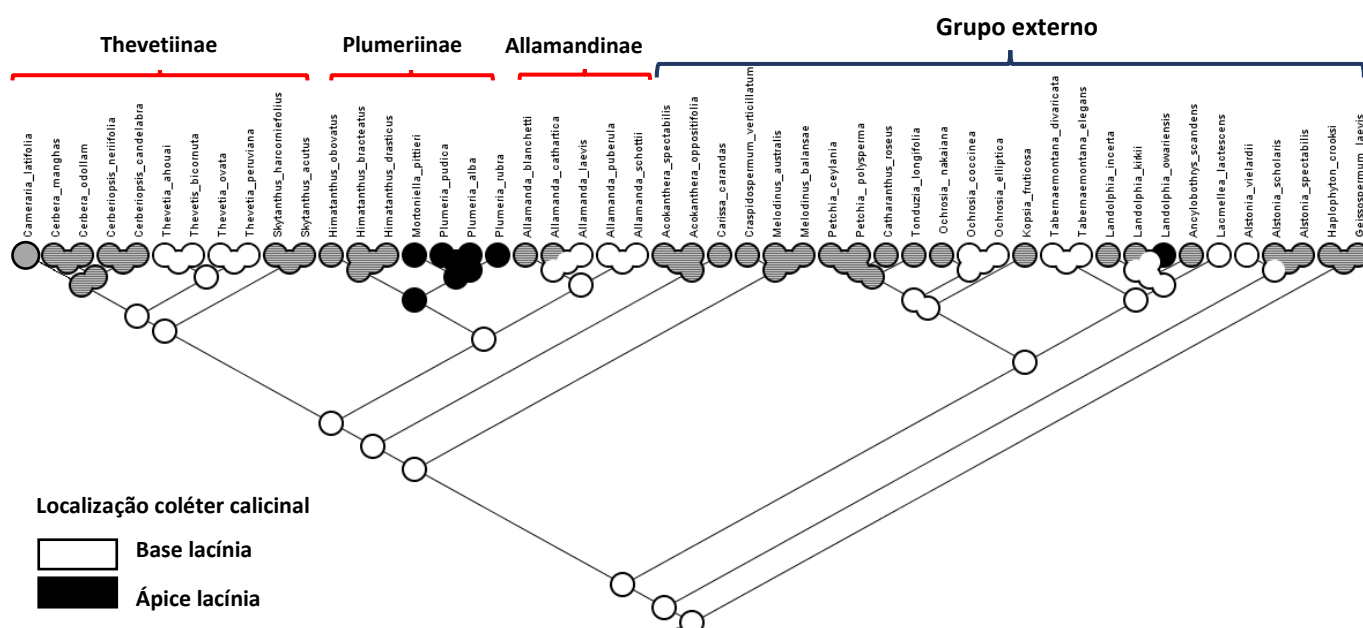
Cladogramas das análises morfoanatômicas para Plumerieae e grupo externo.



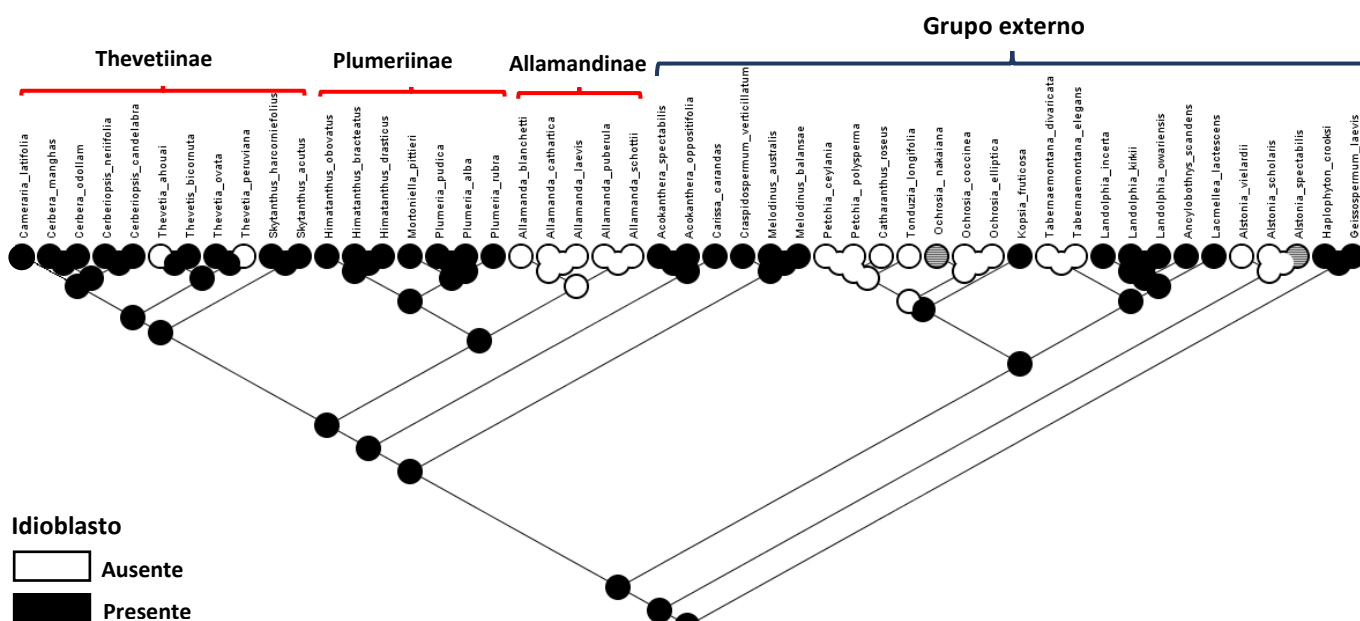
Cladograma 1: Caráter 1: Número de lacínias do cálice: zero-três lacínias é sinapomorfia para o gênero *Himatanthus*, sendo único gênero a apresentar esta característica dentro de Plumerieae e entre todas as espécies do grupo rauphioide analisadas.



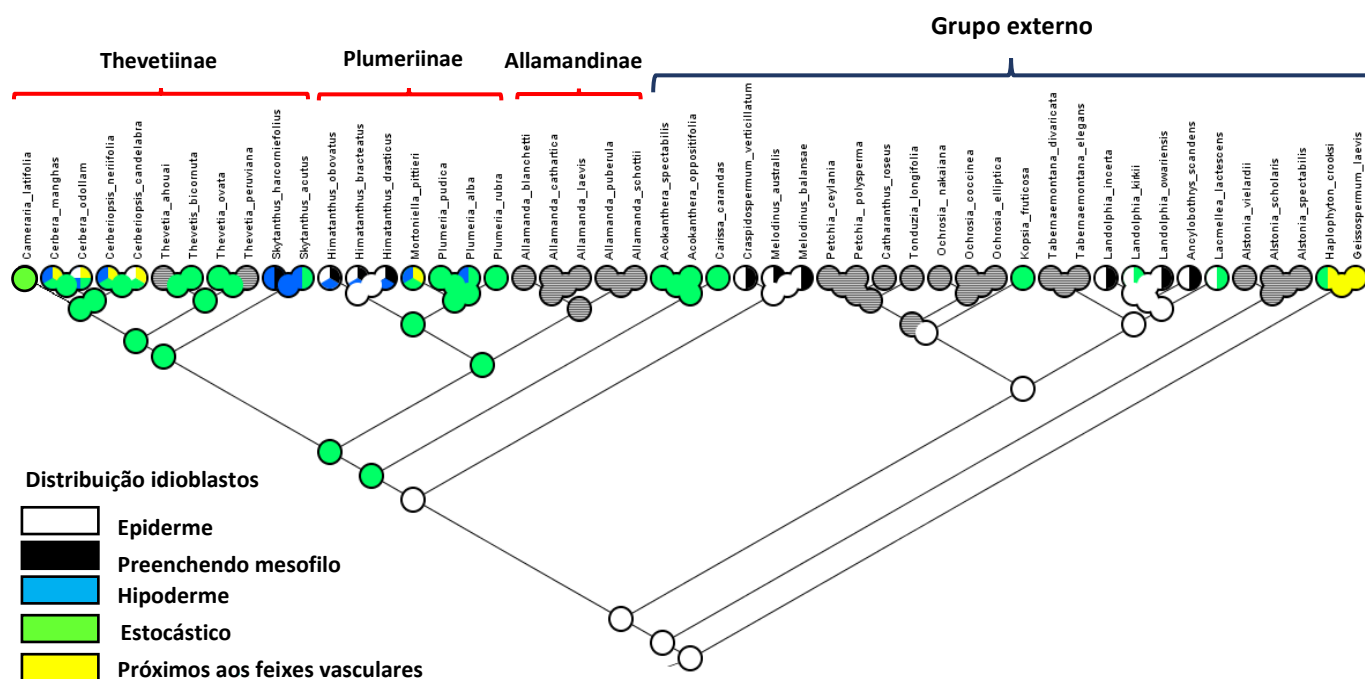
Cladograma 2: Caráter 2: presença de coléteres calicinais. Coléteres calicinais estão presentes nas três subtribos de Plumerieae, sendo a ausência desta estrutura uma condição plesiomórfica na tribo.



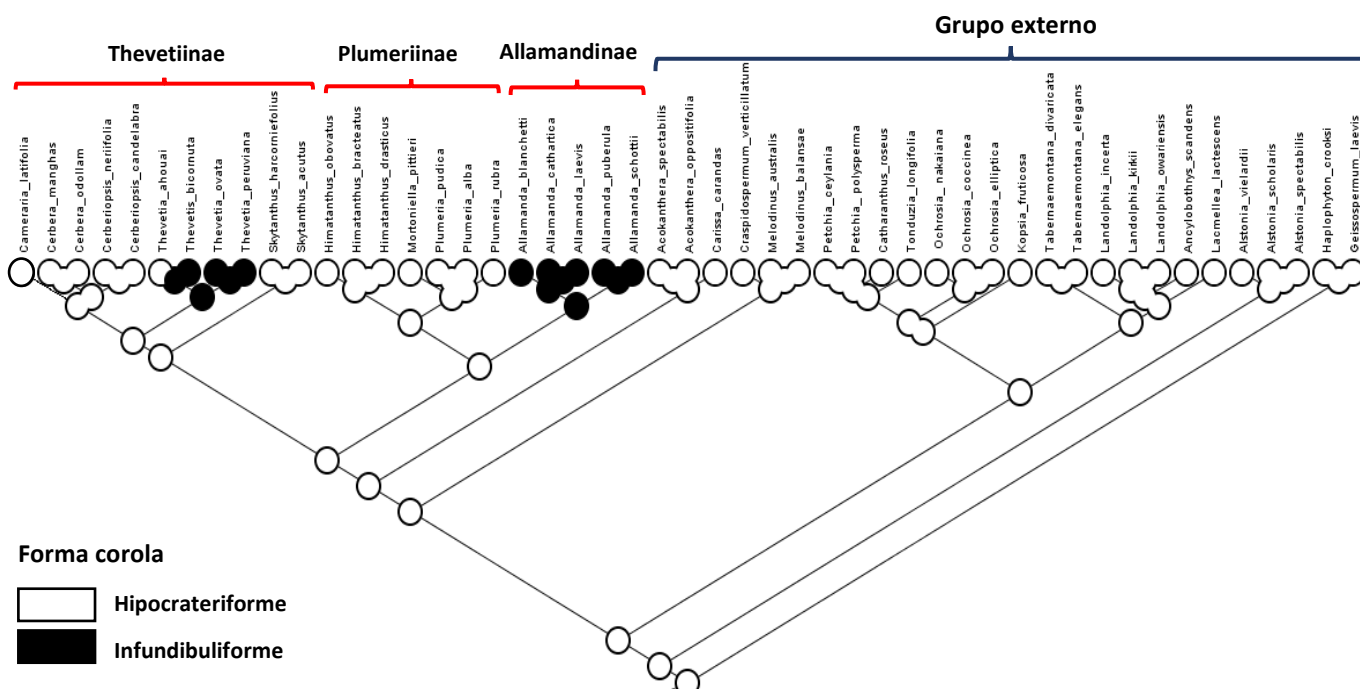
Cladograma 3: Caráter 3: Localização dos coléteres calicinais. Comumente são encontrados na base interna das lacínias, sendo provável condição plesiomórfica. Porém em *Plumeriinae* estas estruturas ocorrem no ápice da lacínia, constituindo sinapomorfia para esta subtribo, estando ausente em *Mortoniella*.



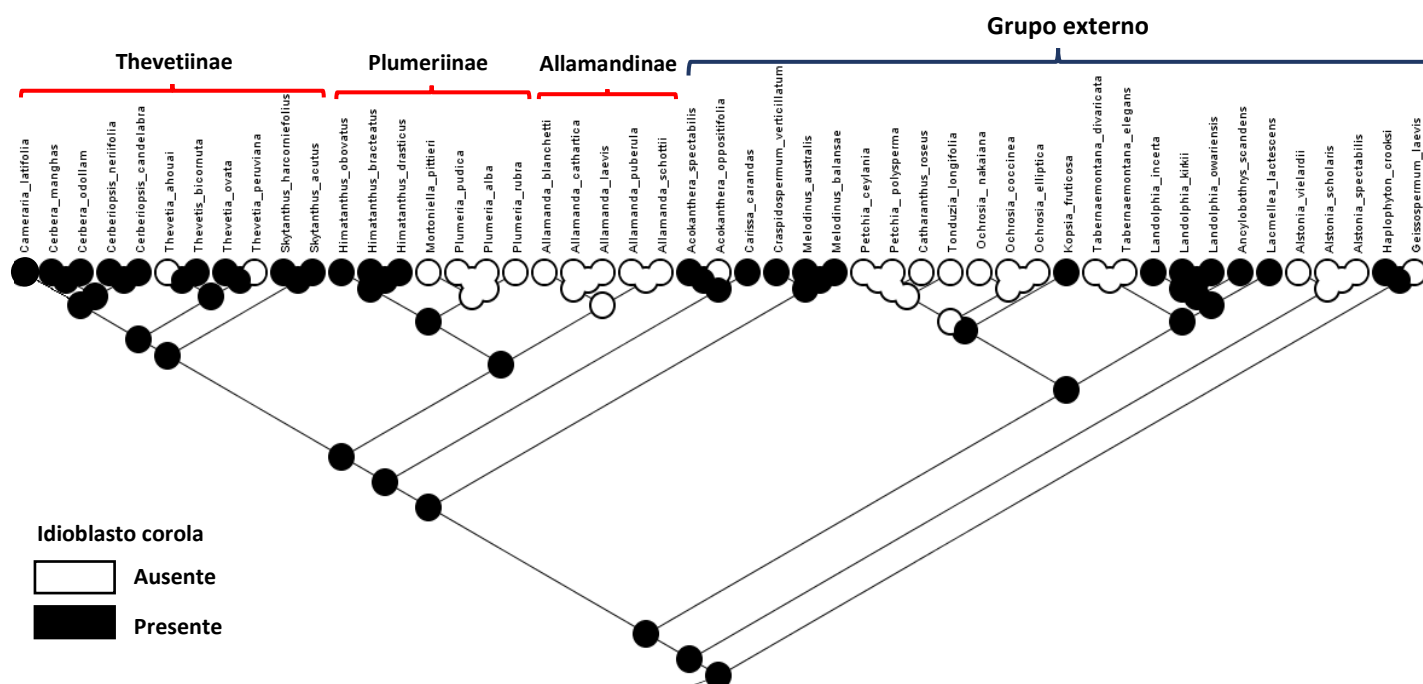
Cladograma 4: Caráter 6: Presença de idioblastos secretores no cálice. Presença de idioblastos secretores é provável condição plesiomórfica no grau rauvolfioide e particularmente em *Plumeriinae*. Na tribo a ausência é sinapomorfia para a subtribo *Allamandinae*.



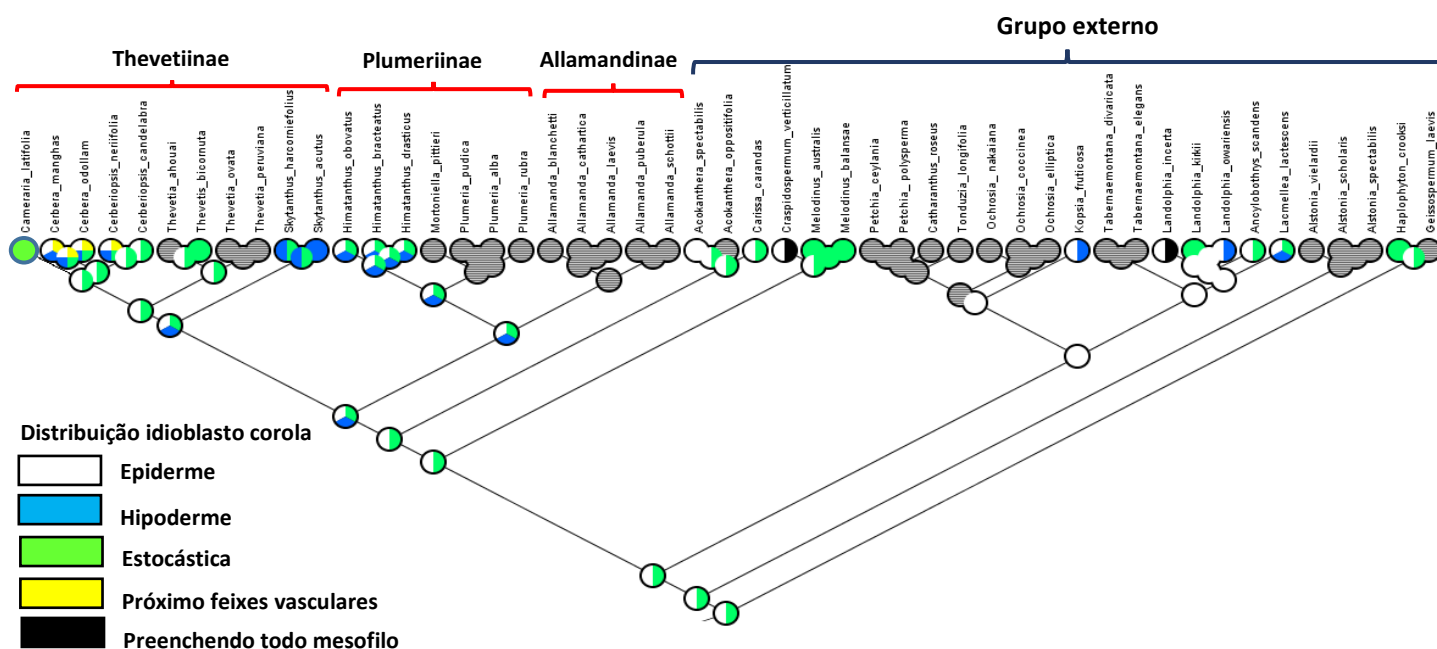
Cladograma 5: Caráter 7: Distribuição dos idioblastos secretores no cálice. A provável condição plesiomórfica para Plumerieae é distribuição estocárcica, assim como para as subtribos Plumeriinae e Thevetiinae. Contudo, nestas duas subtribos outros padrões de distribuição também estão presentes, dependendo do gênero e/o espécie analisados.



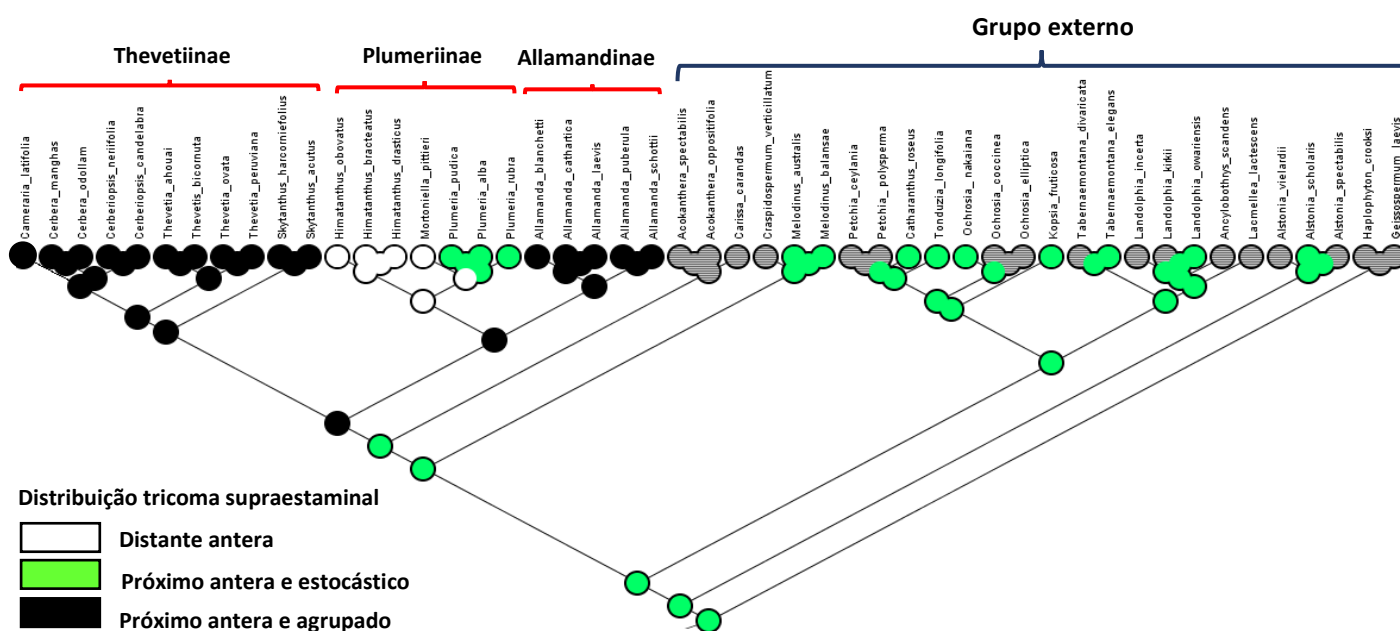
Cladograma 6: Caráter 9: Forma da corola. O que predomina tanto no grau rauvolfioide quanto em Plumerieae é a corola hipocrateriforme, sendo condição plesiomórfica para ambos grau e tribo. Contudo corola infundibuliforme aparecem de duas formas independentes em *Allamandinae* e na maioria das espécies de *Thevetia*.



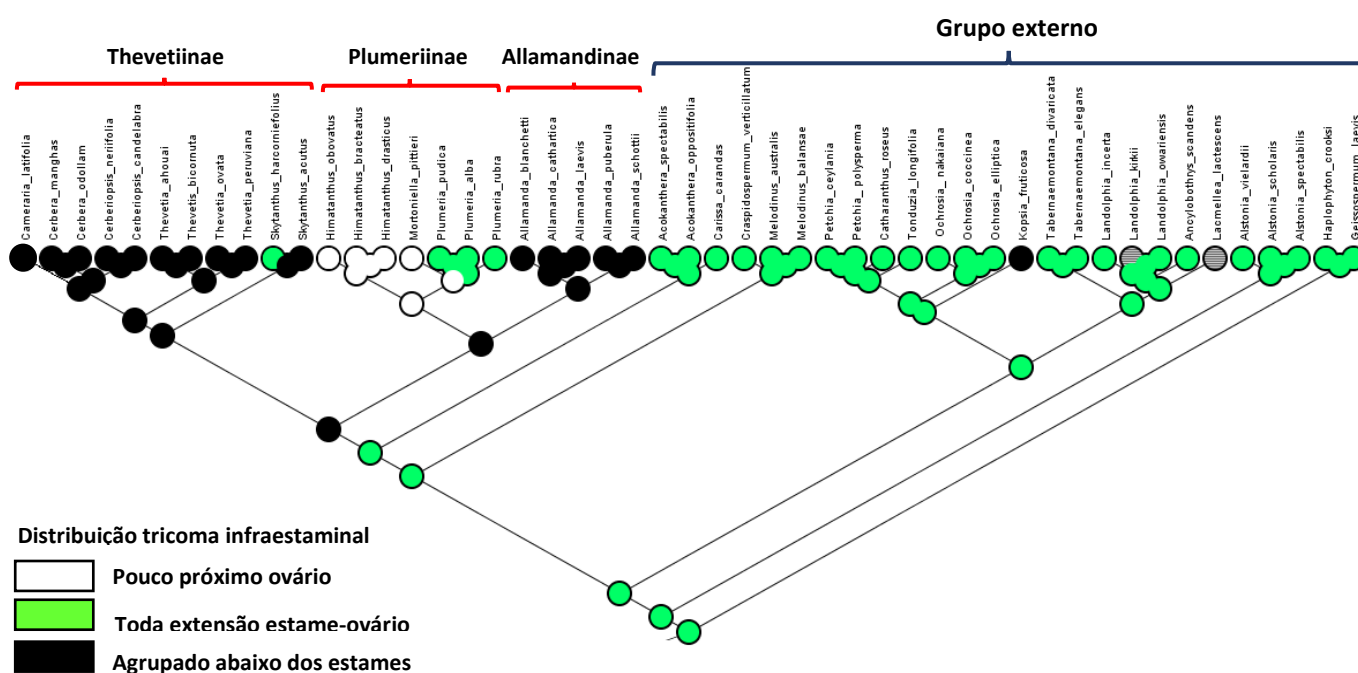
Cladograma 7: Caráter 10: Presença de idioblastos secretores na corola. Presença destas estruturas é relativamente comum e pode ser condição plesiomórfica tanto para o grau raufolfoide quanto para Plumerieae. Na tribo apenas *Allamandinae* e algumas espécies de *Thevetia* não ocorre idioblasto secretor na corola.



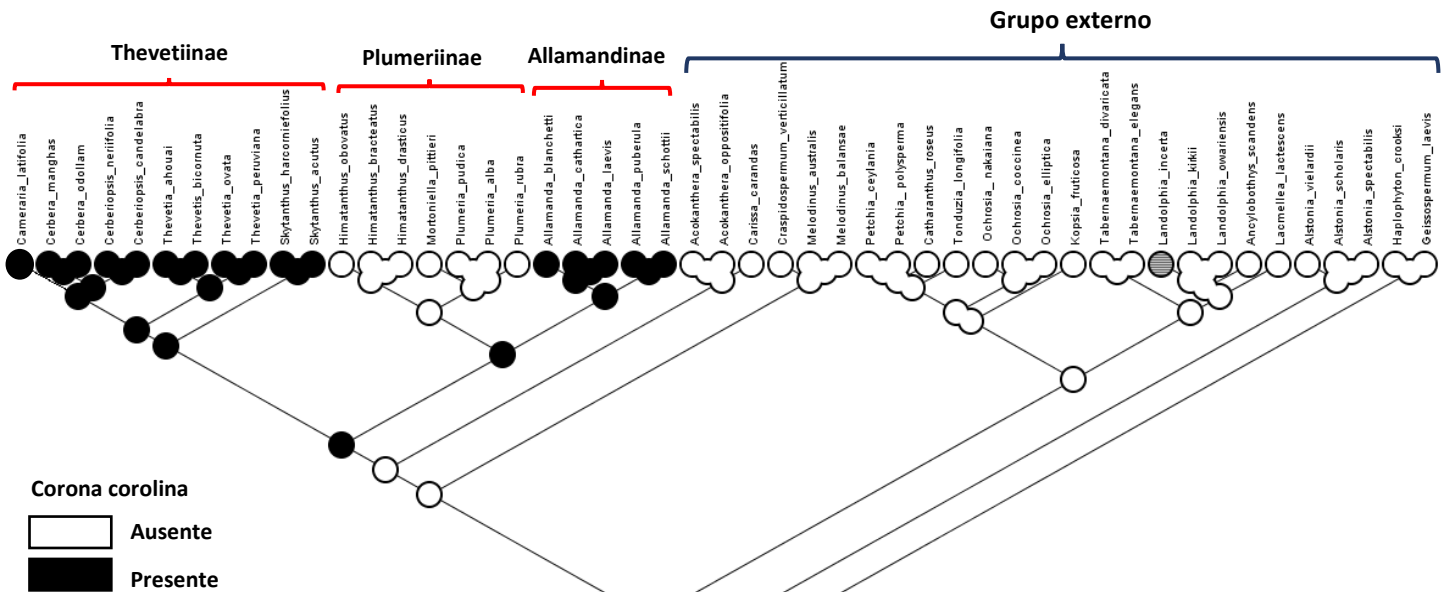
Cladograma 8: Caráter 11: Distribuição dos idioblastos secretores na corola. A distribuição é bem variada, principalmente dentro da Tribo Plumerieae, dependendo da espécie e do gênero estudado. A presença de hipoderme é uma condição muito comum dentro da tribo e uma provável condição plesiomórfica em *Plumerieae*.



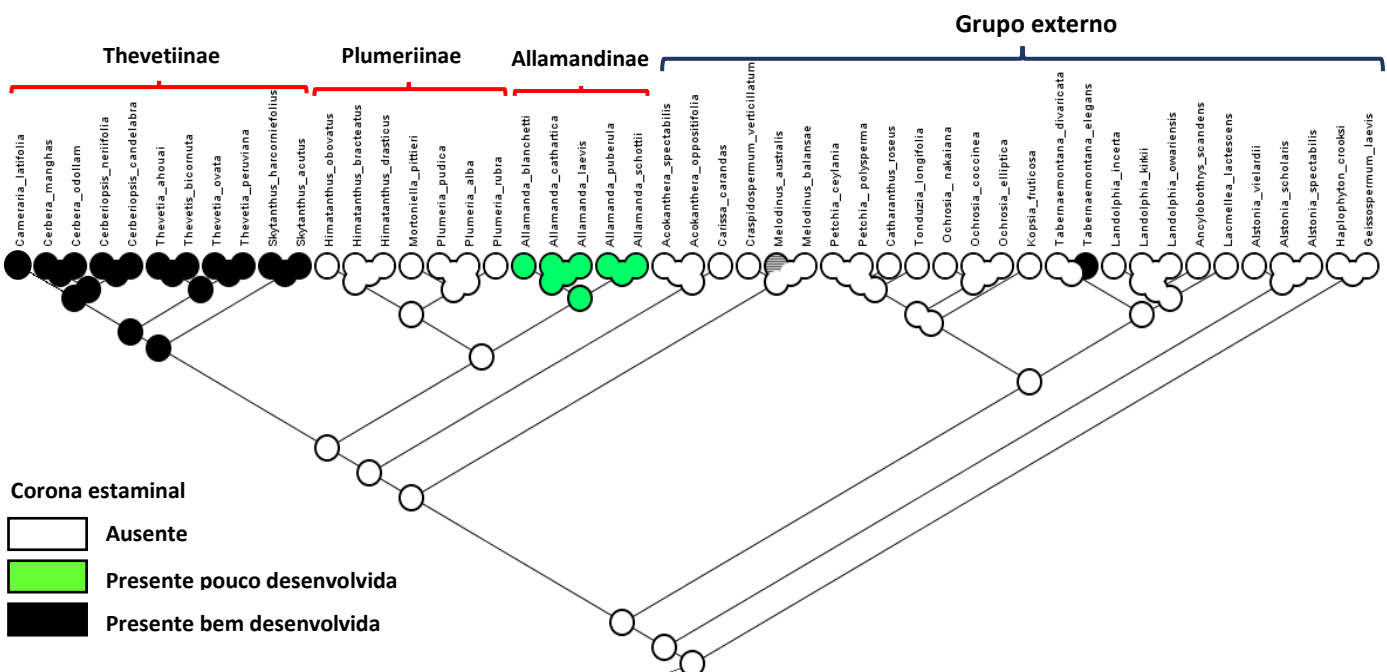
Cladograma 9: Caráter 13: Distribuição dos tricomas supraestaminais da corola. Os tricomas supraestaminais são importantes em Plumerieae para a constituição das coronas corolinas, quando se apresentam agrupados acima das anteras, como visto em *Allamandinae* e *Thevetiinae*, sendo provável sinapomorfia da tribo, perdida em *Plumeriinae*.



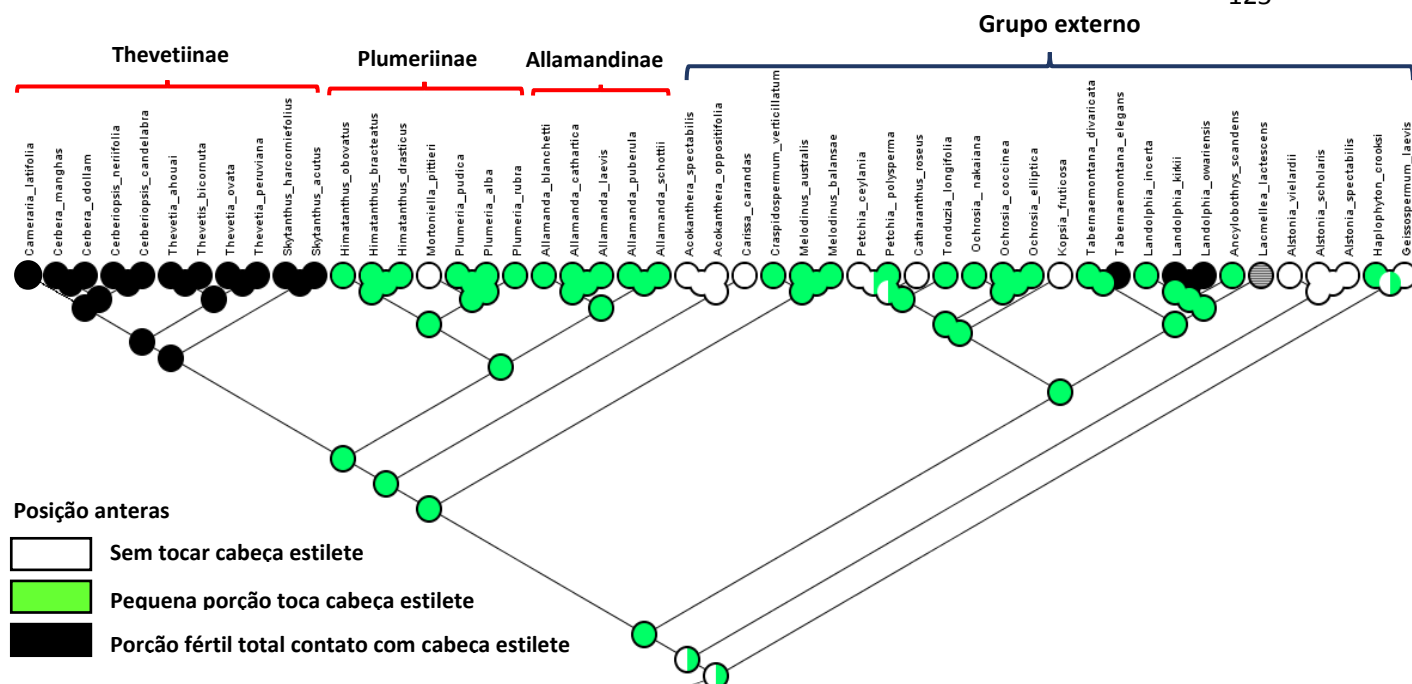
Cladograma 10: Caráter 14: Distribuição dos tricomas infraestaminais da corola. Tricomas agrupados próximos aos estames se mostram como sinapomorfia para Plumerieae, sendo perdido apenas em *Plumeriinae*. O padrão agrupados próximos aos estames está relacionado à presença de corona estaminal.



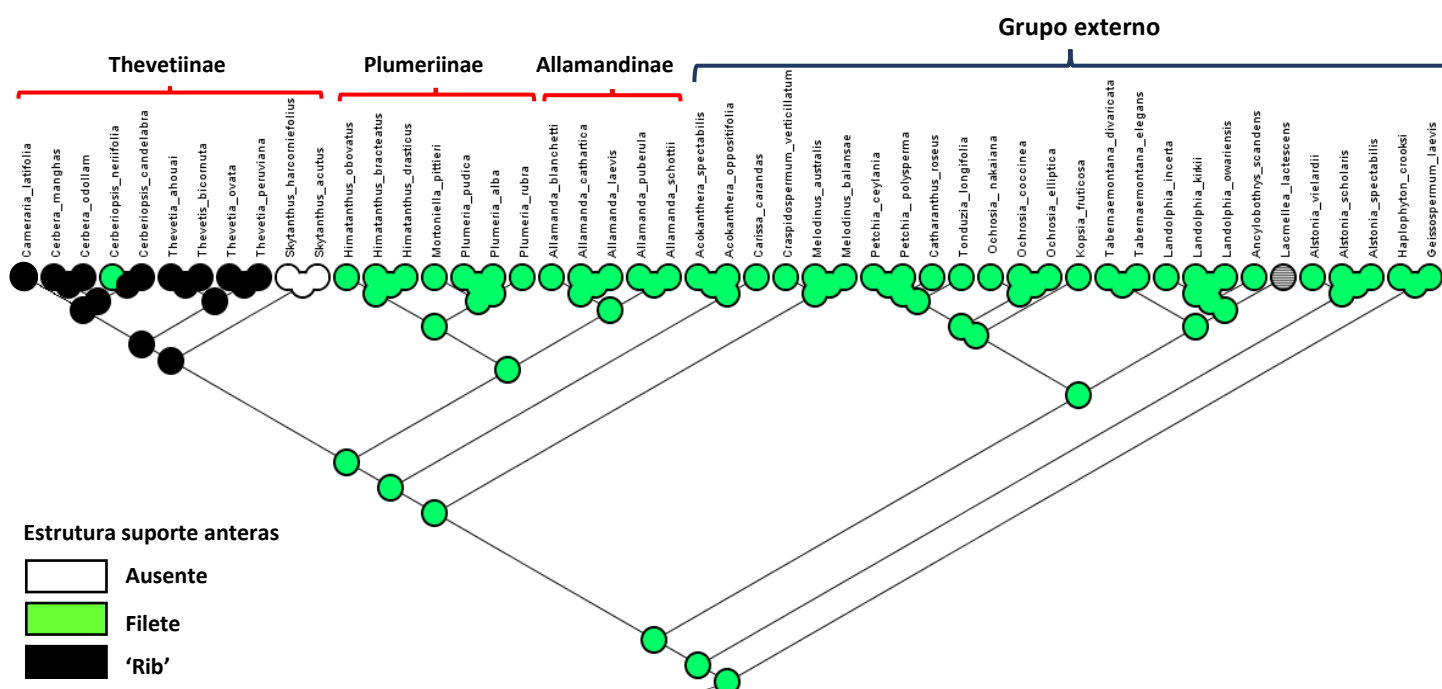
Cladograma 11: Caráter 15: Corona corolina. Coronas são comuns nas subfamílias de Apocynaceae e no grado apocynóide, porém em raúvolfioide já foram sitadas como apêndices. Corona corolina é condição exclusiva de Plumeriinae dentro do grado raúvolfioide, sendo sinapomorfia para a tribo, ausente apenas em *Plumeriinae* e formada exclusivamente por tricoams em *Allamandinae*. A presença desta estrutura é muito importante no ponto de vista evolutivo e ecológico.



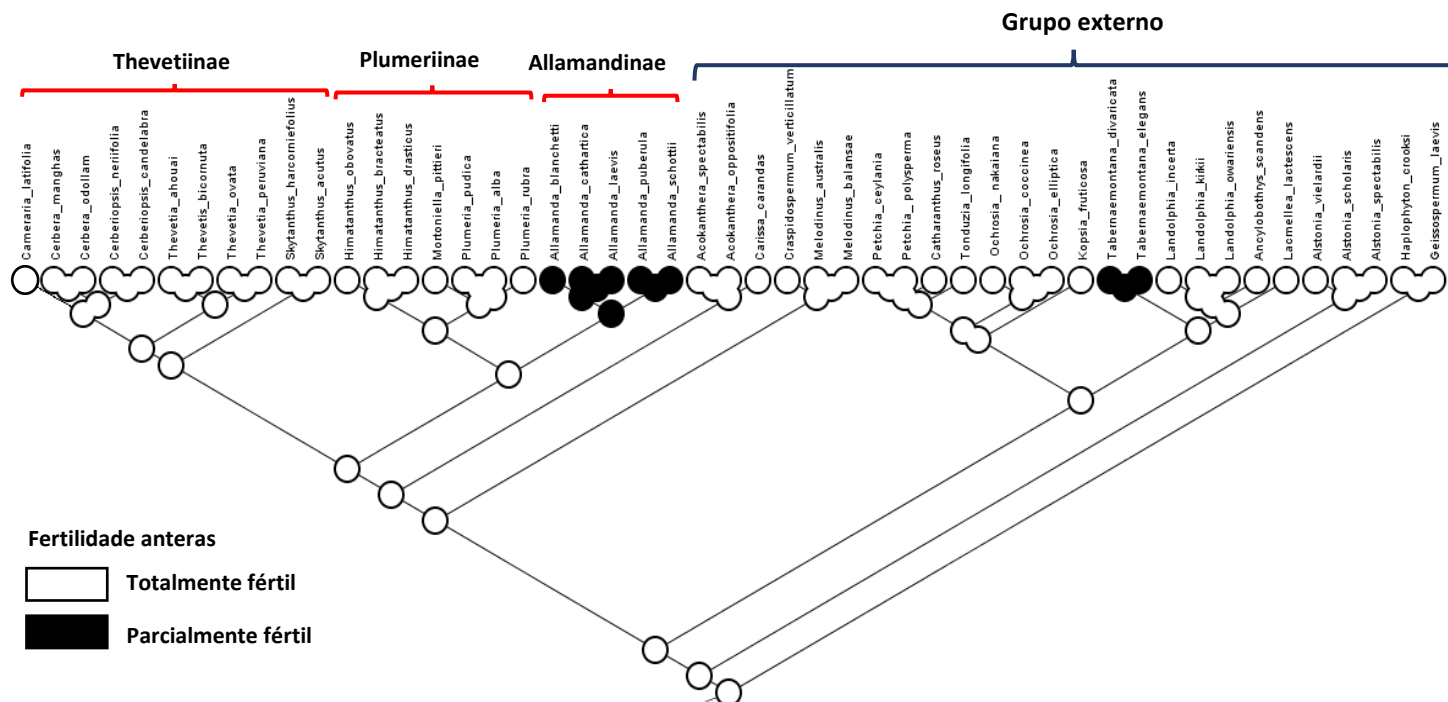
Cladograma 12: Caráter 17: Corona estaminal. Esta estrutura está presentes apenas em Plumeriinae, em uma espécie de *Tabernaemontana*, com exceção em *Plumeriinae*, possivelmente surgido duas vezes de forma independente na tribo. Esta estrutura está presente em gêneros que apresentam corona corolina, porém em *Allamandinae* são menos desenvolvidas do que em *Thevetiinae*.



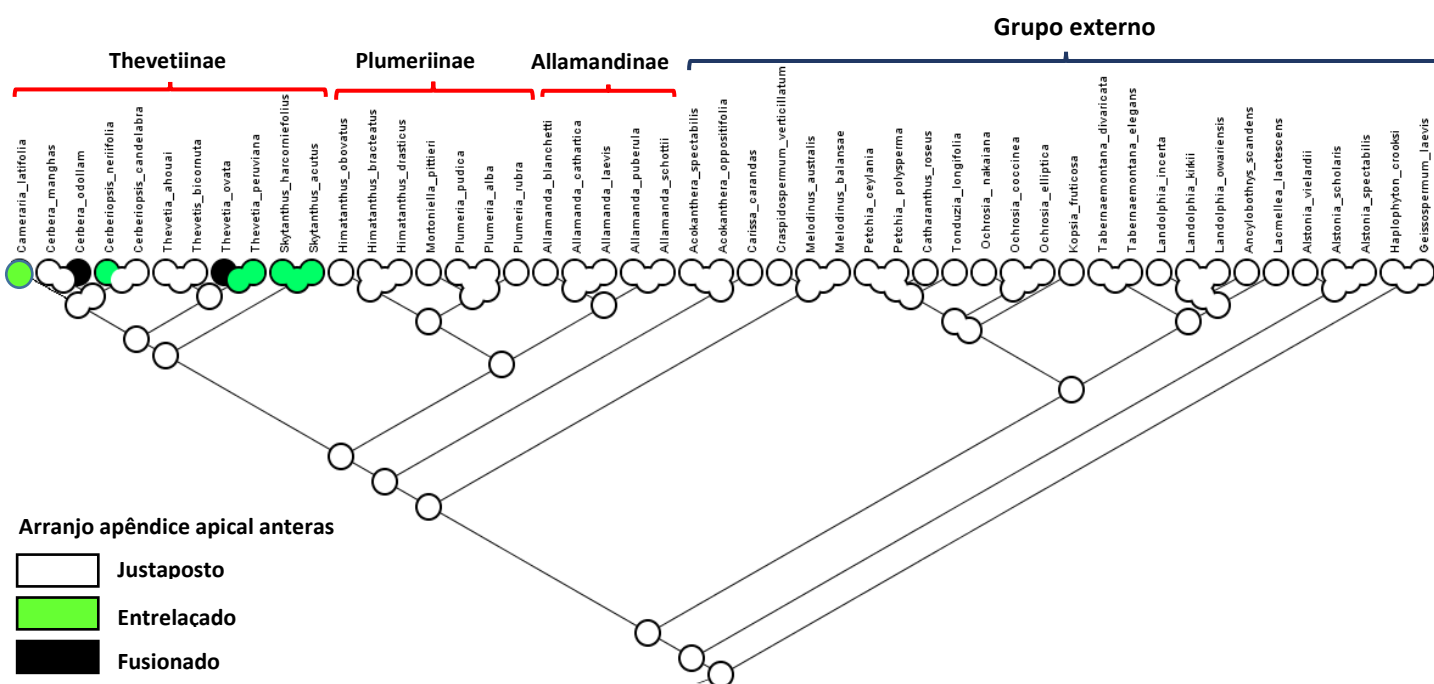
Cladograma 13: Caráter 18: Posição das anteras em relação à cabeça do estilete. A base das anteras tocando uma pequena porção da cabeça do estilete parece ser condição plesiomórfica para *Plumeriinae* e uma condição comum em raufolfoide. Contudo na tribo, *Mortoniella* é o único gênero em que as anteras estão distantes da cabeça do estilete, configurando sinapomorfia para o gênero. E, anteras totalmente acomodadas sobre a cabeça do estilete é sinapomorfia para *Thevetiinae*.



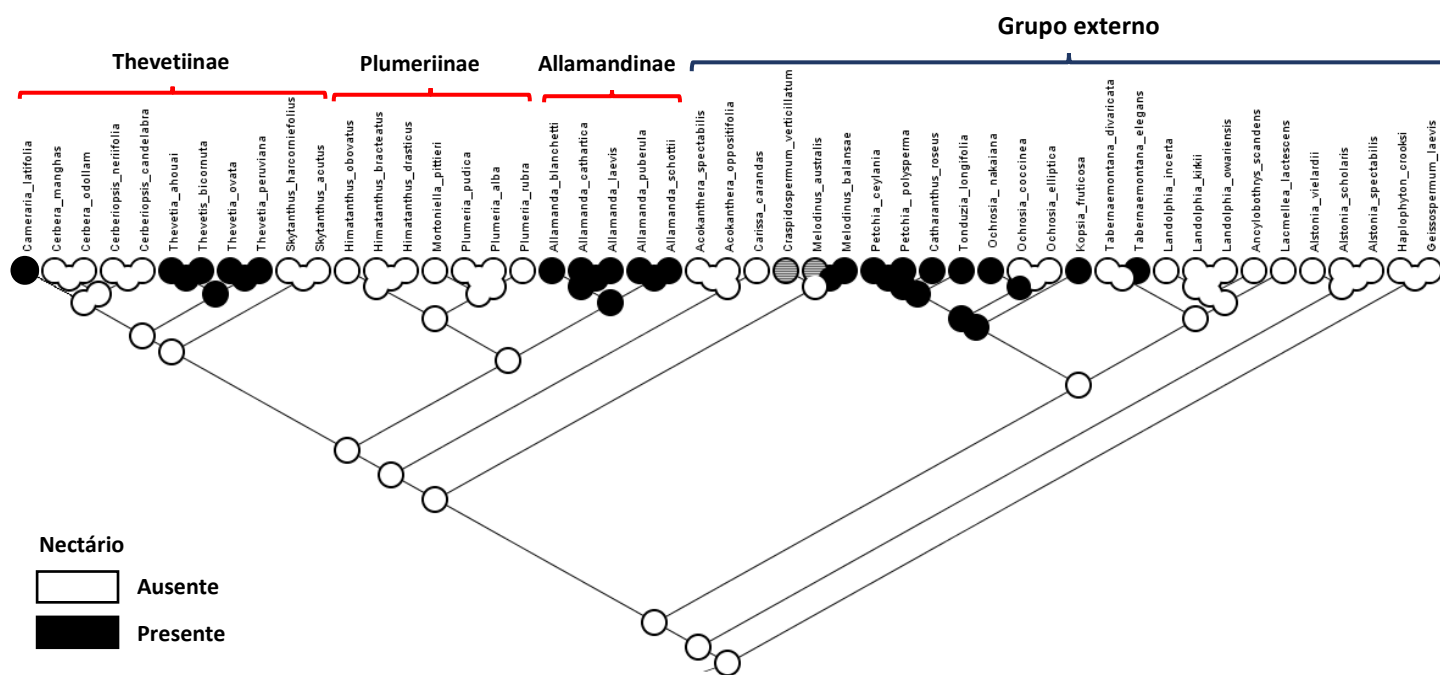
Cladograma 14: Caráter 19: Estrutura de suporte das anteras. Comumente no grau raufolfoide os filetes sustentam as anteras, como visto em *Allamandinae* e *Plumeriinae*, mas em *Thevetiinae* predomina as anteras apoidas em “rib” que é uma extensão da corona estaminal, condição exclusiva para esta subtribo, além de anteras sésseis sinapomorfia para o gênero *Skytanthus*.



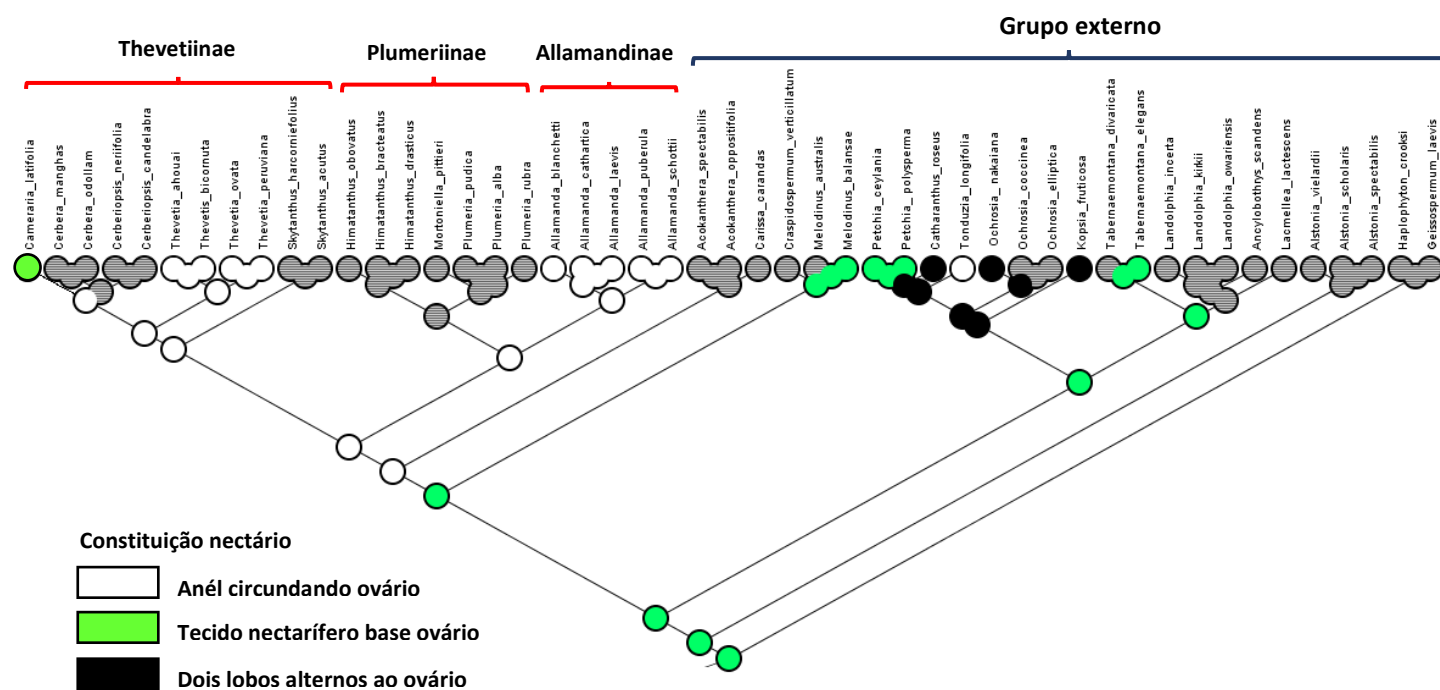
Cladograma 15: Caráter 20: Fertilidade das anteras. Predomina em rauvolfioide as anteras totalmente férteis, porém *Allamandinae* apresentar anteras parcialmente férteis, constituindo sinapomorfia para esta subtribo em Plumerieae, compartilhando esta característica com *Tabernaemontana*. Contudo, *Allamanda* não apresenta lignificação das anteras como visto em *Tabernaemontana*.



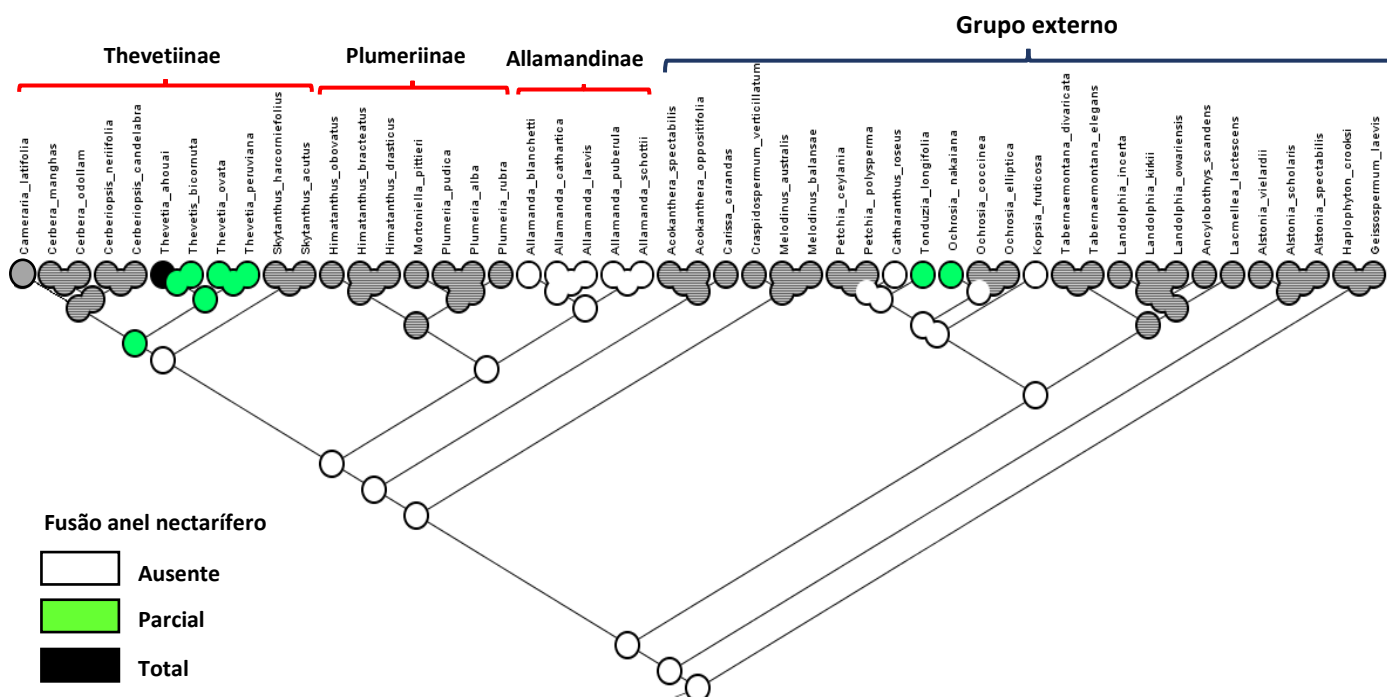
Cladograma 16: Caráter 23: Arranjo dos apêndices apicais das anteras sobre a cabeça do estilete. Predomina no grado rauvolfioide e na tribo Plumerieae os apêndices apicais das anteras dispostos de maneira justaposta sobre a cabeça do estilete. Porém, em *Thevetiinae* podem estar entrelaçados entre si, por apresentarem-se mais alongados, condição que pode ter surgido quatro vezes de forma independente nesta subtribo. Além, destas estruturas apresentarem fusão entre si, visto em *Thevetia* e *Cerbera*, condição mais complexa do ponto de vista evolutivo.



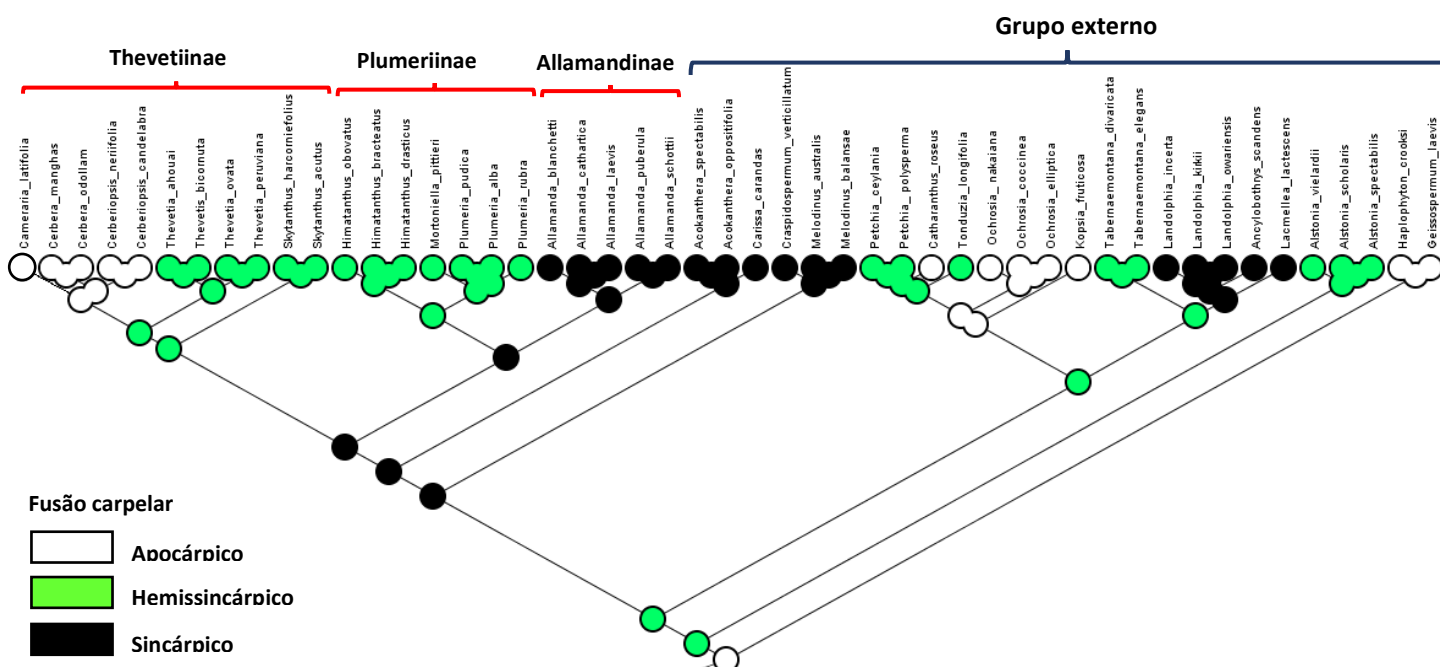
Cladograma 17: Caráter 24: Presença de nectário: Na tribo Plumerieae, assim como em rauvolfioide, a ausência de nectário é uma condição plesiomórfica. A presença desta estrutura parece ter surgido três vezes de forma independente entre dentro da tribo.



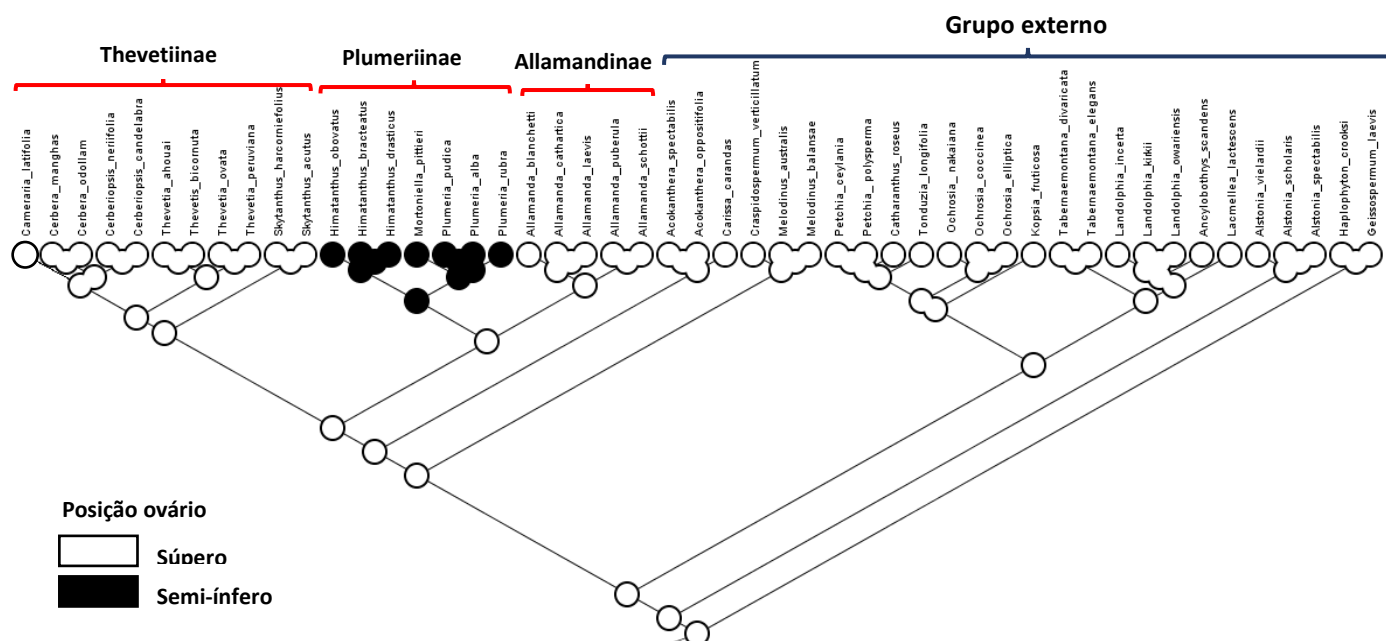
Cladograma 18: Caráter 25: Constituição do nectário. Em cinza espécies que não apresentam nectário. Na tribo Plumerieae, anel nectarífero é a provável condição plesiomórfica, mantida em *Allamandinae* e em *Thevetia*. *Cameraria* é a única espécie que apresenta o nectário não estruturado.



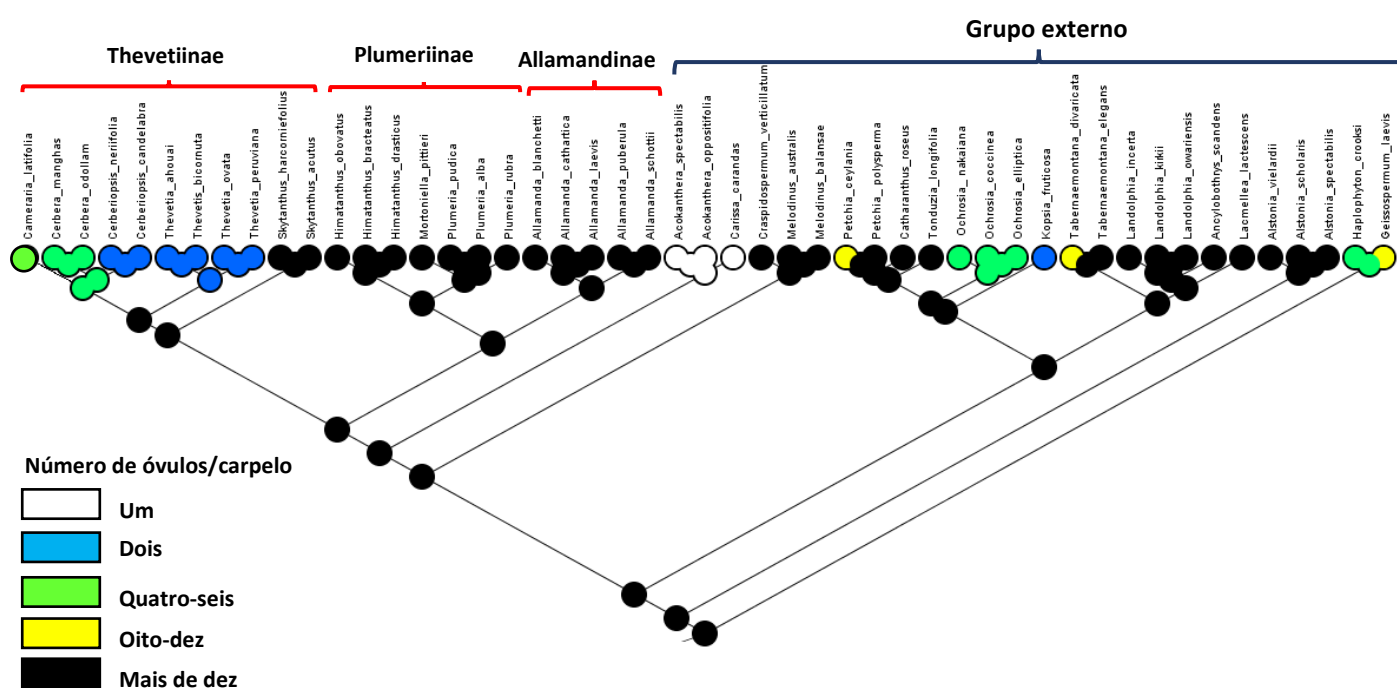
Cladograma 19: Caráter 26: Fusão do anel nectarífero ao ovário. Mesmo compartilhando esta característica entre *Allamandinae* e *Thevetia* o nectário não se funde ao ovário em *Allamandinae*.



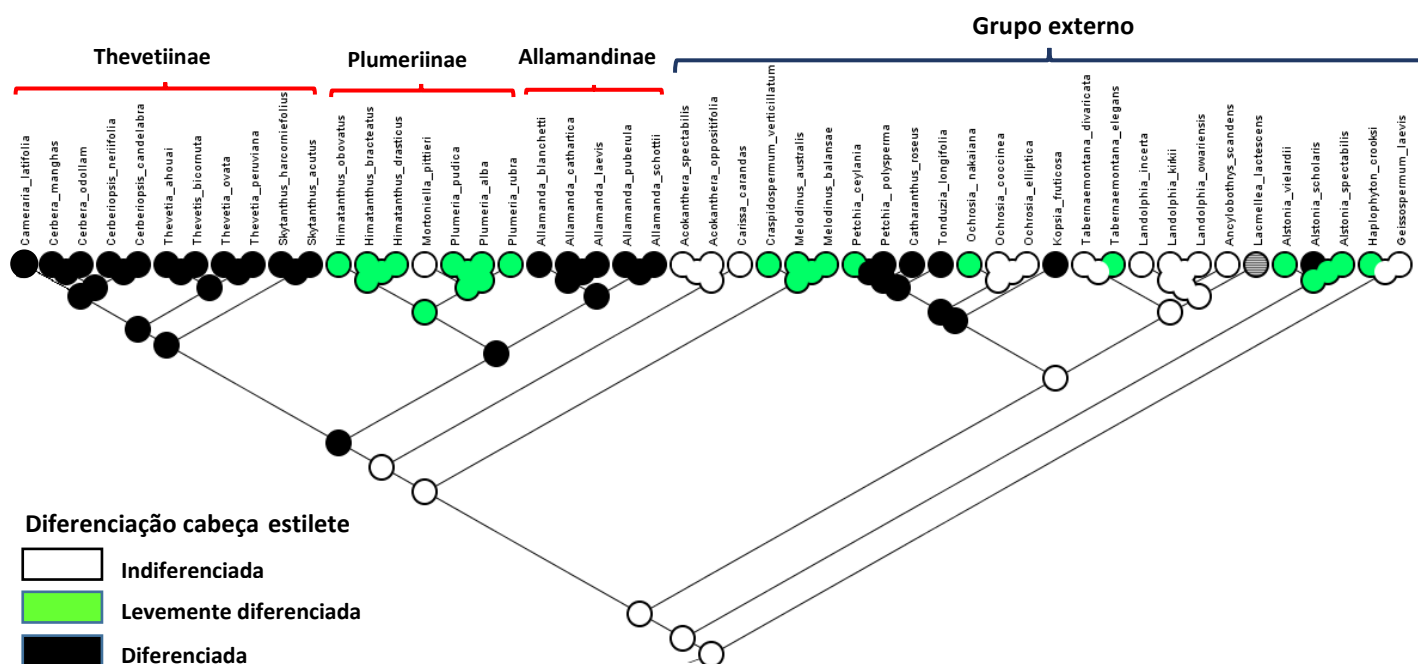
Cladograma 19: Caráter 27: Fusão carpelar: A provável condição plesiomórfica para Plumerieae é o ovário sincárpico, mantida apenas em *Allamandinae*, caracterizando sinapomorfia para a subtribo. A hemissincarpia predomina na tribo, contudo o grau de fusão carpelar varia entre os gêneros, mais expressivo em *Thevetia*.



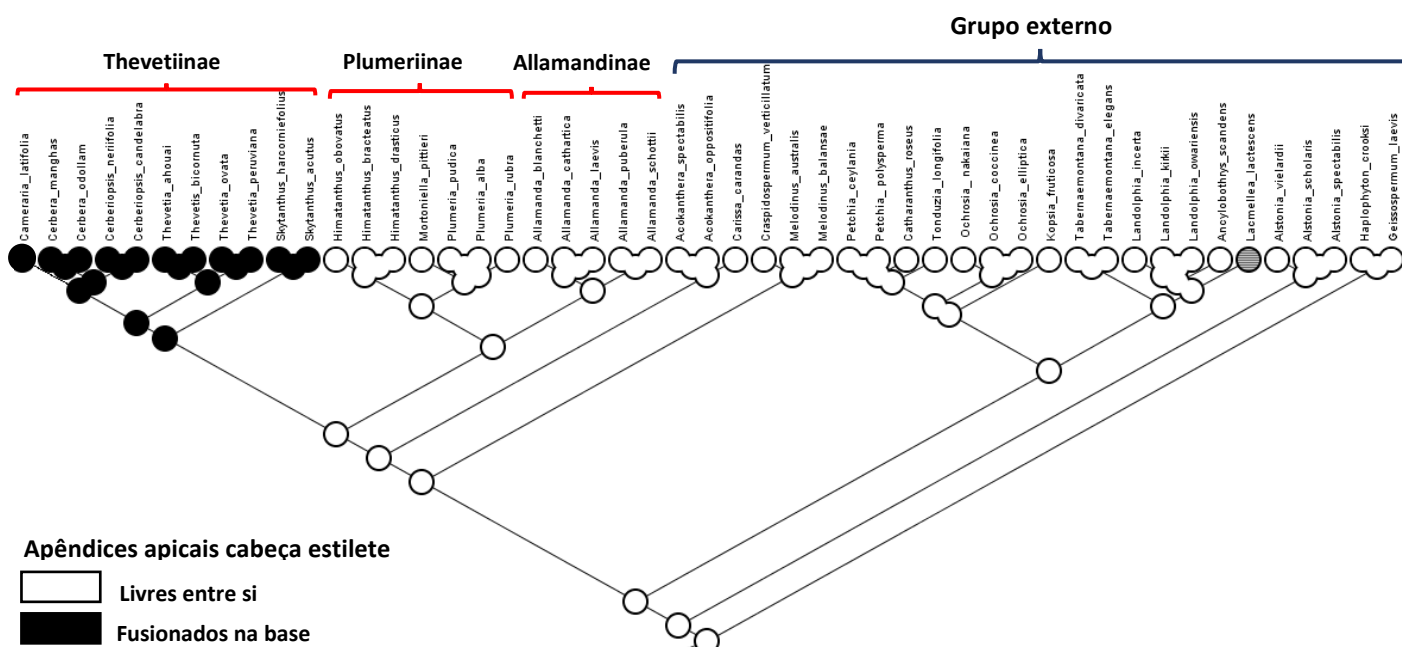
Cladograma 20: Caráter 28: Posição do ovário. Ovário semi-ífero é exclusivo para *Plumeriinae*, constituindo sinapomorfia para a subtribo. Esta característica não foi observada em nenhuma outra espécie, incluindo o grupo externo.



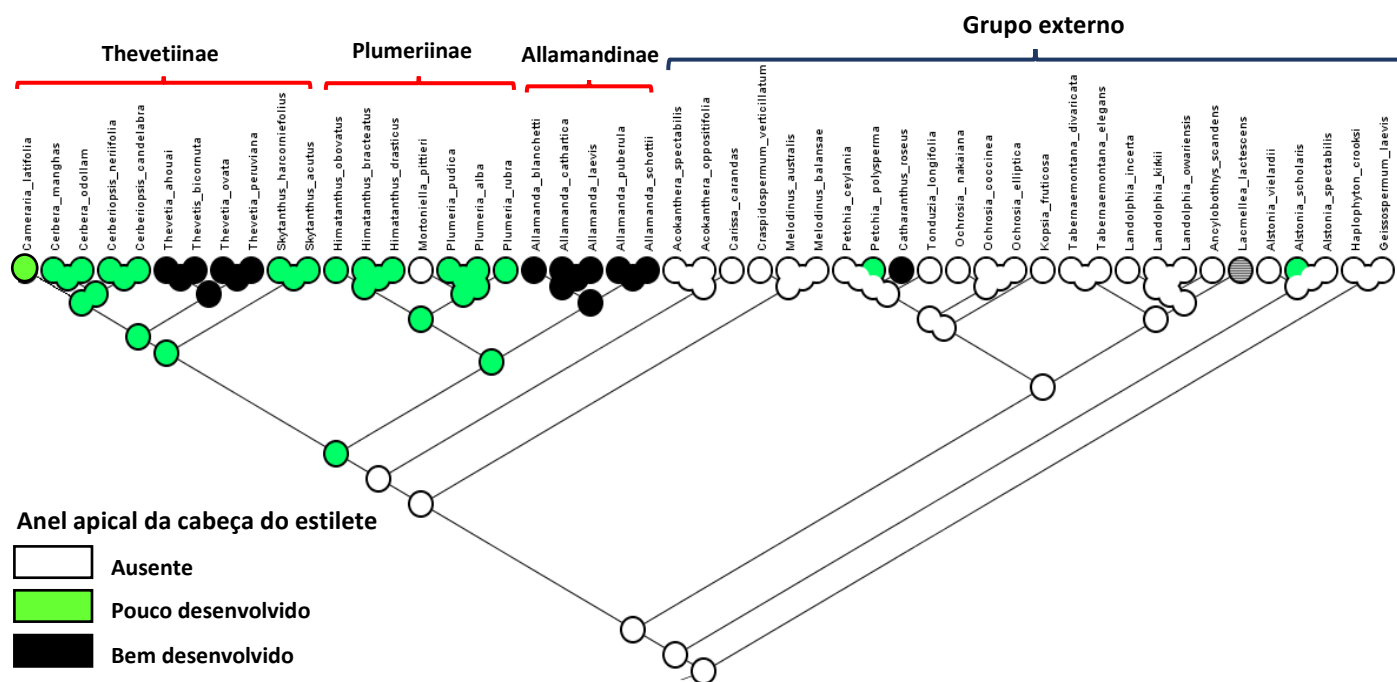
Cladograma 21: Caráter 30: Número de óvulos por carpelo. Na tribo, assim como na maioria das rauphalioides, o gineceu é composto por dois carpelos, predominando muitos óvulos por carpelo. Esta condição é a provável condição plesiomórfica na tribo Plumeriinae. Contudo, em *Thevetiinae* ocorre uma redução no número de óvulos, caracterizando sinapomorfia para a subtribo.



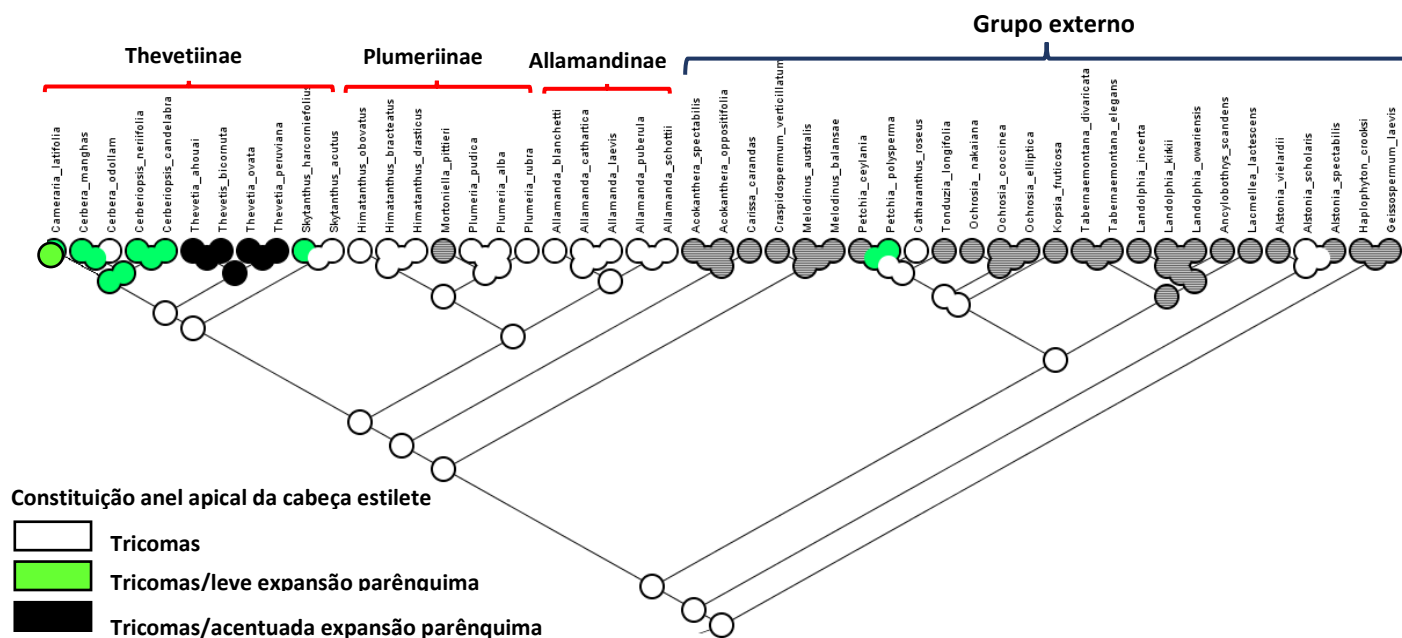
Cladograma 22: Caráter 33: Diferenciação da cabeça do estilete. Cabeça do estilete indiferenciada foi muito citado para rauvolfioide. Na tribo Plumerieae a provável condição plesiomórfica é a cabeça do estilete diferenciada, presente em *Thevetiinae* e *Allamandinae*. Apenas em *Plumeriinae* ocorre leve diferenciação da cabeça do estilete, ou mesmo ausência de diferenciação, visto em *Mortoniella*.



Cladograma 23: Caráter 35: Fusão dos apêndices apicais da cabeça do estilete. Apêndices apicais da cabeça do estilete aparecem fusionados na porção basal e mediana apenas em *Thevetiinae*, caracterizando sinapomorfia para a subtribo, ausente, inclusive, nas demais espécies do grado rauvolfioide.

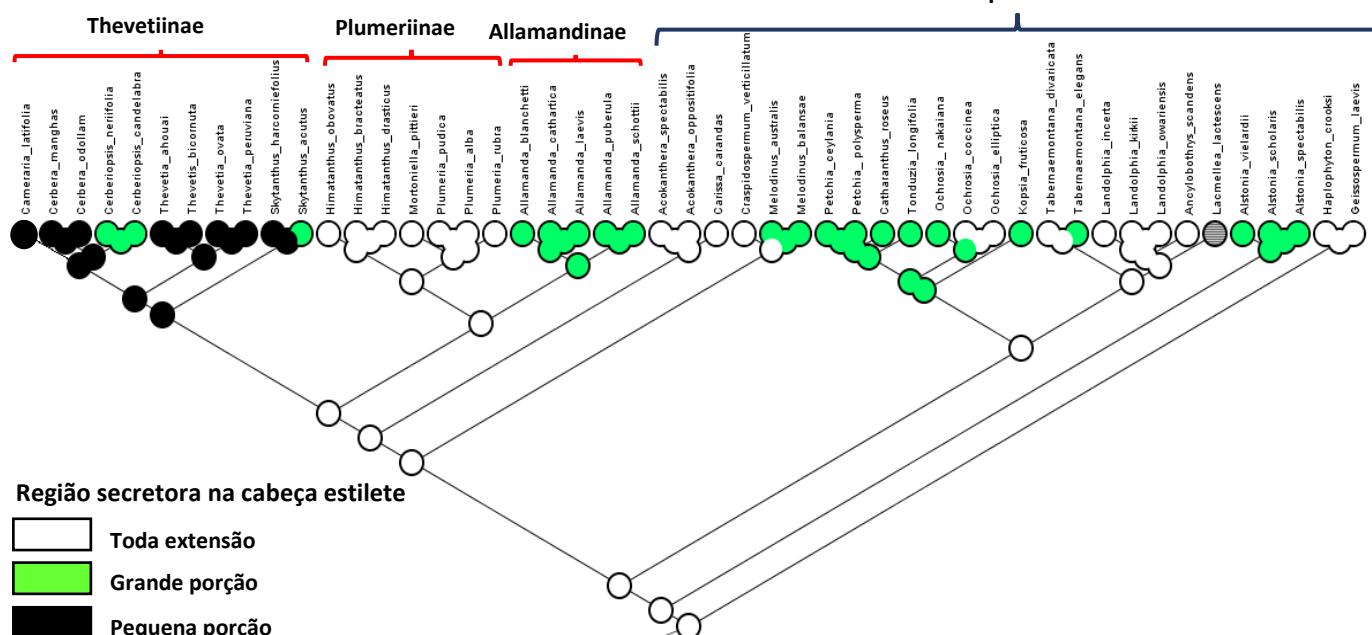


Cladograma 24: Caráter 37: Presença de anel apical da cabeça do estilete. A condição plesiomórfica para Plumerieae é presença de anel apical pouco desenvolvido. Esta condição predomina na tribo, porém anel apical bem desenvolvido ocorrem em *Allamandinae* e em *Thevetia*. A ausência de anel apical é sinapomorfia de *Mortoniella*.



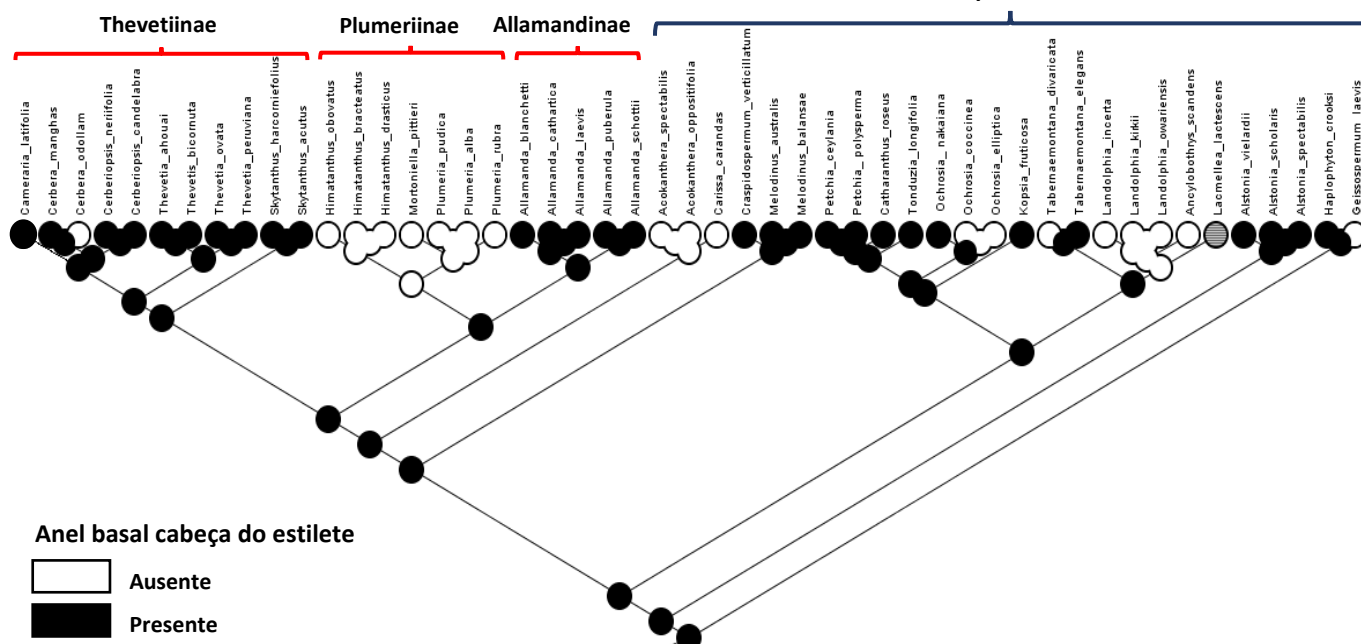
Cladograma 25: Caráter 38: Constituição do anel apical da cabeça do estilete. Anel apical constituído por tricomas predomina em Plumerieae. Porém em *Thevetiinae* as expansões parenquimáticas ajudam a compor o anel apical da cabeça do estilete, sendo *Thevetia* o gênero em que há acentuadas expansões parenquimáticas, constituindo sinapomorfia para o gênero.

Grupo externo



Cladograma 26: Caráter 40: Proporção entre região secretora e não secretora na cabeça do estilete. Região secretora em toda a extensão da cabeça do estilete ocorre nas espécies que apresentam cabeça do estilete levemente diferenciada ou não diferenciada, como em *Plumeriinae*, sendo condição plesiomórfica em *Plumeriinae*. Em *Allamandinae* ocorre em uma grande extensão e em *Thevetiinae* esta porção secretora é reduzida, configurando provável sinapomorfia, com reversão de condição em *Cerberiopsis* e *Skytanthus acutus*.

Grupo externo



Cladograma 27: Caráter 41: Presença de anel basal da cabeça do estilete. A presença de anel basal parece ser condição comum em *rauvolfioide* e em *Plumeriinae*. A ausência de anel basal é sinapomorfia para *Plumeriinae*. Em *Cerbera odollam*, a ausência de anel basal pode constituir reversão do estado de caráter na subtribo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados gerados na presente tese confirmam a heterogeneidade das estruturas florais na tribo que permitiram estabelecer relações entre seus gêneros constituintes, bem como entre espécies e suas delimitações nas três subtribos propostas por Endress *et al.* (2014). Apesar desta distinção morfológica, Plumerieae é um grupo monofilético fortemente sustentado por dados moleculares, assim como suas subtribos e gêneros.

No capítulo 1, foi possível resolver a circunscrição interna da tribo, estabelecendo as relações entre seus gêneros e subtribos, além de confirmar sua monofilia e sua relação irmã com Hunterieae. O que pode ser melhor explorado, já que não foi o objetivo deste capítulo, é o estudo filogenético direcionado a circunscrição de cada gênero, uma vez que a tribo é relativamente pequena, compondo um total de 53 espécies. Seria interessante estudar as relações filogenéticas principalmente de *Thevetia* que tem gerado dúvidas quanto a sua circunscrição. Atualmente há duas propostas em uso para este gênero: citado como dois distintos gêneros *Cascabela* e *Thevetia* e, mantido como *Thevetia* apenas. Como não incluímos todas as oito espécies deste gênero, não pudemos confirmar sobre sua delimitação. Além disso, com os dados gerados no capítulo 1, há informações suficientes para os estudos de reconstrução e evolução de caracteres florais na tribo, assim podemos integrar metodologias diferentes para entender melhor o grupo.

Apesar da quantidade substancial de dados anatômicos apresentados no Capítulo 2, acreditamos que estes podem ser melhorados com a inclusão de mais espécies, principalmente em *Cerbera*, *Cerberiopsis*, *Cameraria* e *Anechites*, gêneros pouco estudados pela dificuldade de obtenção destes materiais. Além disso, outras metodologias podem auxiliar na obtenção de mais informações sobre esta tribo, como ontogenia floral de espécies das três subtribos e estudos histoquímicos de idioblastos secretores, coléteres e da cabeça do estilete.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADANSON, M. 1768.** Familles des plantes. (Reimp. 1966. Introdução de F.A. Stafleu.) Ed. Lehre, Paris.
- AGUIAR, S. CARMELLO-GUERREIRO, S. M. & KINOSHITA L. S. 2009.** Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll.Arg.) Markgr. (Apocynaceae). *Acta Botanica Brasilica* 23: 729-737.
- ALLORGE, L. 1975.** Rattachement de la tribu des Allamandées aux Echitoidées (Apocynacées). *Adansonia* 2(15): 273-276.
- ALLORGE, L. 1976.** Morphologie et biologie florale des Apocynacées: Applications taxonomiques. PhD diss. École pratique des Hautes Etudes, Paris.
- ALVARADO-CARDENAS, L. & OCHOTERENA, H. 2007.** A phylogenetic analysis of the *Cascabela-Thevetia* complex (Plumeriaceae; Apocynaceae) based on morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 298-323.
- ALVARADO-CARDENAS, L. VILLASENOR, J. L. LOPEZ-MATA, L. CADENA, J. & ORTIZ, E. 2017.** Systematics, distribution and conservation of *Cascabela* (Apocynaceae: Rauvolfioideae: Plumeriaceae) in Mexico. *Plant Systematic and Evolution* 303 (3): 337-369.
- APPEZZATO-DA-GLORIA & ESTELITA, M. E. 2000.** Development, struture and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. veluina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23: 113-120.
- CANDOLLE, A. P. DE 1844.** Ordo CXXIX. Apocynaceae. - In Candolle, A. E. DE, (Ed.): *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, Paris: Fortin, Masson. 317-489.
- CAPELLI, N. V. RODRIGUES, B. A. & DEMARCO, D. 2017.** Stipules in Apocynaceae: an ontogenetic perspective. *AoB PLANTS*, V. 9.
- CRONQUIST, A. 1988.** The Evolution and Classification of Flowering Plants. New York
- BOITEAU, P. & ALLOROE, L. 1978.** Morphologie et biologie florales des Apocynacées: I. Différences essentielles entre les Plumdrioidées et les Tabernaemontanoides. *Adansonia* 17: 305-326.
- BOKE, N. H. 1949.** Development of the Stamens and Carpels in *Vinca rosea* L. *American Journal of Botany* 36: 535-547.
- DAVE, Y. THOMAS, V. & KURIACHEN, P. M. 1987.** Structure and development of colleters of *Aganosma caryophyllata* G. Don. *Pakistan Journal of Botany* 19: 243-248.

- DEMARCO, D. 2005.** Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne (Apocynaceae s.l.). Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- DEMARCO, D. 2008.** Glândulas de órgãos vegetativos aéreos e florais de espécie de Asclepiaceae (R. BR.) Duby (Asclepiadoideae, Apocynaceae) de Mata Atlântica do Estado de S.P. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- DEMARCO, D. KINOSHITA, L.S. & CASTRO, M. 2006.** Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 133-144.
- DEMARCO, D. 2014.** Secretory tissues and the morphogenesis and histochemistry of pollinarium in flowers of Asclepiadeae (Apocynaceae). *International Journal of Plant Sciences* 175: 1042-1053.
- DEMARCO, D. 2017a.** Floral glands in asclepiads: structure, diversity and evolution. *Acta Botanica Brasilica* 31: 477-502.
- ENDRESS, P. K. 1994.** Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Camb. Univ Press, Cam Massachussets.
- ENDRESS, M. E. & BRUYNS, P. 2000.** A revised classification of Apocynaceae s.l. *Botanical Review* 66: 1-56. 74
- ENDRESS, P. K. JENNY, M. & FALLEN, M. E. 1983.** Convergent elaboration of apocarpous gynoecia in higher dicotyledons (Sapindales, Malvales, Gentianales). *Nordic Journal of Botany* 3: 293-300.
- ENDRESS, M. E. LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2007a.** Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 259- 267.
- ENDRESS, M. E. VAN DER HAMM, R. W. J. M. NILSSON, S. CIVEYREL, L. CHASE, M. W. SENNBAD, B. POTGIETER, K. JOSEPH, J. POWELL, M. LORENCE, D. ZIMMERMANN, Y. M. & ALBERT, V. A. 2007b.** A phylogenetic analysis of Alyxieae (Apocynaceae) based on *rbcL*, *matK*, *trnL* intron, *trnL-F* spacer sequences, and morphological characters. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 1-35.
- ENDRESS, M. E. SENNBAD, B. NILSSON, S. CIVEYREL, L. CHASE, M. W. HUYSMANS, S. GRAFSTRO E. M. & BREMER. B. 1996.** A phylogenetic analysis of Apocynaceae s.str. and some related taxa in Gentianales: A multidisciplinary approach. *Opera Botanica Belgica* 7:59-102

- ESAU, K. 1965.** Plant anatomy, 2nd ed. Wiley, New York.
- EZCURRA, C. 1981.** Revisión de las Apocynaceae de la Argentina. *Darwiniana* 23: 367-474.
- FAHN, 1979.** Secretory Tissues in Plants. Academic Press Inc., London.
- FALLEN, M. E. 1983.** Morphological, functional, and evolutionary aspects of the flower in the Apocynaceae. Ph.D. thesis, University of Zurich, Zurich.
- FALLEN, M. E. 1983.** A systematic revision of Anechites (Apocynaceae). *Brittonia* 35: 222-231.
- FALLEN, M. E. 1986.** Floral structure in Apocynaceae: morphological, functional and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 106: 245-286.
- FISHBEIN, M. LIVSHULTZ, T. STRAUB, S. C. K. SIMÕES, A. O. BOUTTE, J. MCDONNELL, A. & FOOTE, A. 2018.** Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers and fruits. *American Journal of Botany* 105: 1-19.
- FJELL, I. 1983.** Anatomy of the xeromorphic leaves of *Allamanda neriifolia*, *Thevetia peruviana* and *Vinca minor* (Apocynaceae). *Nordic Journal of Botany* 3: 383-392.
- GALETTO, L. 1997.** Flower structure and nectar chemical composition in three Argentine Apocynaceae. *Flora* 192: 197-207.
- GENSEL, W. H. 1969.** A revision of the genus *Thevetia* (Apocynaceae). Master thesis. University of Connecticut [University Microfilms International, Ann. Arbor.].
- GOMES, S. M. 2006.** Ontogenia floral com ênfase no estudo do gineceu em Apocynaceae s.l. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- GOMES, S. M. & CAVALCANTI, T. B. 2001.** Morfologia floral de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). *Acta Botanica Brasilica* 15: 73-88.
- GOMES, S. M. KINOSHITA, L. S. & CASTRO, M. M. 2008.** Hemisyncarpy and appendicular nectary approached by floral ontogeny of *Mandevilla velame* (A. St.-Hil.) Pichon, Apocynoideae. *Revista Brasileira de Botânica* 31: 81-93.
- GRAY, A. 1878.** Synoptical Flora of North America. Vol. II - Part I. Gamopetalae after Compositae. New York: Ivison, Blakeman, Taylor & Co.
- JUDD, W. S. CAMPBELL, C. S. KELLOG, E. A. & STEVENS, P. F. 2007.** Plant systematics: a phylogenetic approach, 3nd. edition. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- JUSSIEU, A. L. DE. 1789.** Genera Plantarum. Herissant, Paris.

- KINOSHITA, L. S.** (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. In: M.G.L. Wanderley; G.J. Shepherd; T.S. Melhem & A.M. Giulietti (orgs.). Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. vol. 4. São Paulo, FAPESP/HUCITEC.
- KOCH, I. BITTRICH, V. & KINOSHITA, L. S.** 2002. Reproductive biology and functional aspects of the floral morphology of *Rauvolfia sellowii* Mull. Arg. (Apocynaceae, Rauvolfioideae)- a report of dioecy in Apocynaceae. Botanischer jahrbucher fur Systematik 124: 83-104.
- KUNZE, H.** 1997. Corona and nectar system in Asclepiadinae (Asclepiadaceae). Flora 192: 175-183.
- LEEUEWENBERG, A. J. M.** 1994. Taxa of the Apocynaceae above the genus level. Series of revisions of Apocynaceae, XXXVIII. Wageningen Agric. Univ. Papers 94(3): 45-60
- LEEUEWENBERG, A. J. M.** 1999. Series of revisions of Apocynaceae: 47. The genus *Cerbera* L. Wageningen Agricultural University Papers 98(3): 64
- LENS, F. ENDRESS, M. E. BAAS, P. JANSEN, S. & SMETS, E.** 2008. Wood anatomy of Rauvolfioideae (Apocynaceae): a search for meaningful non-DNA characters at the tribal level. American Journal of Botany 95(10): 1199-1215.
- LERSTEN, N. R.** 1974a. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *sychotria* (Rubiaceae). American Journal of Botany 61: 973-981.
- LERSTEN, N. R.** 1974b. Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. Botanical Journal of Linnean Society 69: 125-136.
- LIEDE, S.** 1997. Subtribes and genera of the tribe Asclepiadeae (Apocynaceae, Asclepiadoideae). A synopsis. TAXON 46: 233-247.
- LIPPOLD, H.** 1980. Die gattungen *Thevetia* L., *Cerbera* L. und *Cascabela* Rafin. (Apocynaceae). Feddes Repertoire 91: 45-55.
- LIN, S. & BERNARDELLO, G.** 1999. Flower structure and reproductive biology in *Aspidosperma quebracho-blanco* (Apocynaceae), a tree pollinated by deceit. International Journal of Plant Sciences 160: 869-878.
- LINNAEUS, C.** 1753. Species Plantarum 1(1). Holmiae: Impensis Laurentii Salvii, Stockholm, 560 pp.

- LIVSHULTZ, T. MIDDLETON, D. J. ENDRESS, M. E. WILLIAMS, J. K. 2007.** Phylogeny of Apocynoideae and the APSA clade (apocynaceae s.l.). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 94: 324-359.
- MARASCA, R. 2008.** Estrutura secretora em *Rauvolfia* (Apocynaceae). Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- MARQUETE, N. F. S. FONTELLA-PEREIRA, J. & VALENTE, M. C. 2007.** Asclepiadoideae (Apocynaceae) from southeastern Brazil. I. The genus *Oxypetalum* from Rio de Janeiro State, Brazil. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 435-462.
- MARTINS, F. M. 2012.** Leaf and calycine colleters in *Odontadenia lutea* (Apocynaceae-Apocynoideae-Odontadenieae): their structure and histochemistry. *Brazilian Journal of Botany* 359 (1): 59-69.
- MARTINS, F. M. KINOSHITA, L. S. & CASTRO, M. M. 2010.** Coléteres foliares e calicinais de *Temnadenia violacea* (Apocynaceae, Apocynoideae): estrutura e distribuição. *Revista Brasileira de Botânica* 33 (3): 489-500.
- MIRABELLA, M. A. 1897.** Contribuzioni alla conoscenza dei colleteri. Contributions from the biological vegetable. Casa editrice Virzi, Palermo Cap.II:1-28.
- MIDDLETON, D. J. 2007.** Apocynaceae (subfamilies Rauvolfioideae and Apocynoideae). *Flora Malesiana* 18: 1-474
- MORALES, J. F. 2005.** Estudios en las Apocynaceae Neotropicales XIX: La familia Apocynaceae s.str. (Apocynoideae, Rauvolfioideae) de Costa Rica. *Darwiniana* 43: 90-191
- MONACHINO, J. 1943.** A revision of *Couma* and *Parahancornia* (Apocynaceae). *Lloydia* 6: 229-247.
- MOROKAWA, R. MAYER, J. L. S. SIMÕES, A.O. & KINOSHITA, L. S. 2015.** Floral development of *Condylocarpon isthmicum* (Apocynaceae). *Botany* 93: 769-781.
- MULLER-ARGOVENSIS, J. M. 1860.** Apocynaceae. In: Martius, C.P.P. (Ed.). *Flora Brasiliensis*. Lipsiae: Frid. Fleisher. v. 6, pt.1.
- NISHINO, E. 1982.** Corolla tube formation in six species of apocynaceae. *Journal of Plant Research* 95: 1-17
- PICHON, M. 1948a.** Classification des Apocynacées: I. Carissées et Ambelaniées. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique* 24: 111-181.
- PICHON, M. 1948b.** Classification des Apocynacées: V, Cerbéroidees. *Notulae Systematicae, Herbarium du Muséum de Paris, Phanérogamie* 13: 212-229.

- PICHON, M. 1949.** Classification des Apocynacées: IX. Rauvolfiées, Alstoniées, Allamandées et Tabernaémontanées. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique 24: 153-251.
- PICHON, M. 1950.** Classification des Apocynacées: XXVIII, Supplément aux Plumérioidées. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, sér. B, Botanique, 1: 145-166.
- POTGIETER, K. & ALBERT, V. A. 2001.** Phylogenetic relationships within Apocynaceae s.l. based on *trnL* intron and *trnL*-F spacer sequences and propagule characters. Annals of the Missouri Botanical Garden 88: 523-549.
- PLUMEL, M. M. 1991.** Le genre *Himatanthus* (Apocinaceae): revisión taxonomique bradea. Boletim do Herbarium Bradeanum, Rio de Janeiro 5:20
- PLUMEL, M. M. 1990.** Repartition géographique du genre *Himatanthus* em Amerique Tropicale. Comptes-Rendus de la Société de Biogéographie 66: 103-127.
- PURI, V. 1951.** The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. The Botanical Review. 17: 471-553.
- RAMAYYA, N. & BAHADUR, B. 1968.** Morphology of the “squamellae” in the light of their ontogeny. Current Science 37: 520-522.
- RAO, V. S. & GANGULI, A. 1963.** Studies in the floral anatomy of the Apocynaceae. Journal of the Indian Botanical Society 42: 419-435.
- RIO, M. C. S. 2001.** Estudos taxonômicos e anatômicos do gênero *Prestonia* R. Br. nom. cons. (Apocynaceae). Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- RIO, M. C. S. 2006.** Estudos anatômicos em espécies de *Forsteronia* G. Mey (Apocynaceae) de cerrado. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- RIO, M. C. S. CASTRO, M. M. & KINOSHITA, L. S. 2002.** Distribuição e caracterização anatômica dos coléteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 25:339-349.
- RIO, M. C. KINOSHITA, L. S. & CASTRO, M. M. 2005.** Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. Revista Brasileira de Botânica 28: 713-726.
- SAKANE, M. & SHEPERD, G. J. 1987.** Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 9: 125-149.
- SCHUMANN, K. 1895.** Apocynaceae. In: Engler, A e Prantl, L. (ed) Die naturlichen Pflanzenfamilien. Leipzig, Wilhelm Engelmann 4(2): 109-189.

- SENNBLAD, B. ENDRESS, M. E. & BREMER, B. 1998.** Morphology and molecular data in phylogenetic fraternity: the tribe Wrightieae (Apocynaceae) revisited. *American Journal of Botany* 85: 1143-1158.
- SIMÕES, A. O. & KINOSHITA, L. S. 2002.** The Apocynaceae s. str. of the Carrancas region, Minas Gerais, Brazil. *Darwiniana* 40: 127-169.
- SIMÕES, A. O. CASTRO, M. M. & KINOSHITA, L. S. 2006.** Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 152: 387-398.
- SIMÕES, A. O. LIVSHULTZ, T. CONTI, E. & ENDRESS, M. E. 2007.** Phylogenetic and systematics of the Raulvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 268-297.
- SIMÕES, A. O. ENDRESS, M. VAN DER NIET, T. KINOSHITA L. & CONTI, E. 2004.** Tribal and intergeneric relationships of Mesechiteae (Apocynoideae, Apocynaceae): evidence from three noncoding plastid DNA regions and morphology. *American Journal of Botany* 91: 1409-1418.
- SPINA, A. P. BITTRICH, V. KINOSHITA, L. 2013.** Typifications, new synonyms and a new combination in *Himatanthus* (Apocynaceae). *TAXON*. 62:1304–7.
- THOMAS, V. 1991.** Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany* 68: 287-305.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1989a.** Structure, origin, development and senescence of colleters in *Nerium indicum* Mill. (*N. odorum* Soland., Apocynaceae). *Korean Journal of Botany* 32: 163-172.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1989b.** Histochemistry and senescence of colleters of *Allamanda cathartica* (Apocynaceae). *Annals of Botany* 64: 201-203.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1991.** Structure and development of follicles of *Nerium indicum* Mill. (Apocynaceae). *Feddes Repertorium* 102: 399-407.
- TORRES, C. & GALETTO, L. (1998).** Patterns and implications of floral nectar secretion, chemical composition, removal effects and standing crop in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 207–223.
- TOSTES, R. B. VIEIRA, M. F. & CAMPOS, L. A. O. 2003.** Polinização de *Peltastes peltatus* (Vell.) Woodson (Apocynoideae, Apocynaceae) por abelhas euglossíneas. In *Apoidea Neotropica: homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure* (G.A.R. Melo & I. Alves-dos-Santos, eds.). Editora UNESC, Criciúma .297-302.

- VAN DER PLOEG, J. 1985.** Revision of genera *Cyclocotyla* Stapf, *Dewrevella* de Wild. And the african species of the genus *Malouetia* A.DC. (Apocynaceae). Agricultural University Wageningen Papers 85: 59-85.
- VEILLON, J. M. 1971.** Une Apocynacee monocarpique de Nouvelle-Caledonie: *Cerberiopsis candelabrum*. Adansonia. 11: 625-39
- VONK, G. J. A. 1989.** A taxonomic revision of the genus *Ortopichonia*. Wageningen Agricultural University Papers 89: 29-49.
- WALKER, D. B. 1975.** Postgenital carpel fusion in *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). I. Light and scanning electron microscopic study of gynoecial ontogeny. American Journal of Botany 62: 457-467.
- WEBERLING, F. 1992.** Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge (United Kingdom): Cambridge University Press.
- WILLIAMS, J. K. 1996.** A new combination in *Thevetia* (Apocynaceae). Sida 7:185-190.
- WILLIAMS, R.F. METCALFE, R.A. & GUST, L. W. 1982.** The genesis of form in oleander (*Nerium oleander* L.). Australian Journal of Botany 30: 677-687.
- WOODSON, R. E. Jr. 1930.** Studies in the Apocynaceae. I. A critical study of the Apocynoideae (with special reference to the genus *Apocynum*). Annals of the Missouri Botanical Garden 17: 1-213.
- WOODSON, R. E. JR. & MOORE, J. A. 1938.** The vascular anatomy and comparative morphology of apocynaceous flowers. Bulletin of the Torrey Botanical Club 65: 135-166.

Apêndice 1: Táxons utilizados na análise morfoanatômica, indicando a subtribo, espécies e o material testemunho.

Subtribo	Táxons	Coleção
Allamandinae	<i>Allamanda blanchetii</i> A.DC	Gomes, S.M. 487 (UEC)
Allamandinae	<i>Allamanda cathartica</i> L.	Kotovski E. R. s. n. (UEC)
Allamandinae	<i>Allamanda laevis</i> Markgr.	Kotovski, E.R.; Gonçalves, D.J.P.; Belinello, R. 24 (UEC)
Allamandinae	<i>Allamanda puberula</i> A.DC.	Kotovski, E.R.; Gonçalves, D.J.P.; Belinello, R. 55 (UEC)
Allamandinae	<i>Allamanda schottii</i> Pohl	Kotovski, E.R. 1 (UEC)
Plumeriinae	<i>Himatanthus bracteatus</i> (A. DC.) Woodson	Spina, A.P. s.n. (UEC)
Plumeriinae	<i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel	Nunes, E.; Martins, P. s.n. (UEC)
Plumeriinae	<i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.) Woodson	Kotovski, E.R.; Gonçalves, D.J.P.; Belinello, R. 34 (UEC)
Plumeriinae	<i>Mortoniella pittieri</i> Woodson	Costa Rica, J. F. Morales s.n. (UEC)
Plumeriinae	<i>Plumeria alba</i> L.	Gomes, S.M. 653 (UEC)
Plumeriinae	<i>Plumeria rubra</i> L.	cult. em frente ao Inst. de Educação, Unicamp, SP.
Plumeriinae	<i>Plumeria pudica</i> Jacq.	cult. Jardim das Andorinhas, Campinas, SP.
Thevetiinae	<i>Cameraria latifolia</i> L.	cult. Fairchild Botanical Garden

Thevetiinae	<i>Cerbera manghas</i> L.	Dados faltantes
Thevetiinae	<i>Cerbera odollam</i> Gaertn.	Pillon 593 (L)
Thevetiinae	<i>Cerberiopsis candelabra</i> Vieill. ex Pancher & Sebert	Cult. Bot Gard Zurich
Thevetiinae	<i>Cerberiopsis neriiifolia</i> (S.Moore) Boiteau	Dados faltantes
Thevetiinae	<i>Skytanthus hancorniiifolia</i> (A. DC.) Miers	Santos, K.; Monge, M.; Shimizu, G.H.; Jönsson, K. 4745 UEC (194776)
Thevetiinae	<i>Thevetia ahouai</i> (L.) A. DC.	cult. em frente Depto Biol. Vegetal, IB, Unicamp, Campinas SP.
Thevetiinae	<i>Thevetia bicornuta</i> Müll. Arg.	Farinaccio, M.A.; Simões, A.O.; Sinani, T.R.F.; Souza, A.P. 984 UEC (181879)
Thevetiinae	<i>Thevetia ovata</i> (Cav.) A. DC	Cult. Campinas, A.O. Simões s.n. (UEC)
Thevetiinae	<i>Thevetia peruviana</i> K. Schum.	Gomes, S.M. 486 UEC (142020)
-	<i>Carissa carandas</i> L.	RJ, cult. Jardim Botânico Rio de Janeiro, R. Morokawa s.n. (RB, UEC)

Apêndice 2: lista de caracteres e seus estados codificados que foram extraídos dos resultados morfoanatômicos.

- (1) **Número de lacínias do cálice:** 0= cinco; 1= zero a três.
- (2) **Coléteres calicinais:** 0= ausente; 1= presente.
- (3) **Localização dos coléteres calicinais:** 0= base das lacínias; 1= ápice das lacínias.
- (4) **Distribuição dos coléteres calicinais no cálice:** 0= opostos; 1= contínuo; 2= alternos; 3= porção abaxial no ápice da lacínia; 4= porção adaxial e abaxial no ápice da lacínia.
- (5) **Forma dos coléteres calicinais na base do cálice:** 0= standard; 1= bifurcado; 2= fusionados; 3= ramificado; 4= “tipo plumeria”.
- (6) **Idioblasto secretores no cálice:** 0= ausente; 1= presente.
- (7) **Distribuição dos idioblastos secretores no cálice:** 0= na epiderme; 1= hipoderme; 2= estocasticamente distribuído; 3= próximo aos feixes vasculares; 4= todo o mesofilo.
- (8) **Número de camadas da hipoderme no cálice:** 0= uma camada; 1= duas camadas ou mais.
- (9) **Forma da corola:** 0= hipocrateriforme; 1= infundibuliforme.
- (10) **Idioblastos na corola:** 0= ausente; 1= presente.
- (11) **Distribuição dos idioblastos secretores na corola:** 0= na epiderme; 1= hipoderme; 2= estocasticamente distribuído; 3= próximo aos feixes vasculares.
- (12) **Número de camadas da hipoderme na corola:** 0= uma camada; 1= duas camadas ou mais.
- (13) **Distribuição dos tricomas supraestaminais na corola:** 0= distantes dos estames; 1= próximos e distribuídos estocasticamente; 2= próximos e agrupados acima dos estames.
- (14) **Distribuição dos tricomas infraestaminais na corola:** 0= poucos e distribuídos próximos ao ovário; 1= distribuídos em toda a extensão, desde os estames até o ovário; 2= agrupados abaixo dos estames, entre as coronas estaminais e abaixo das mesmas.
- (15) **Corona corolina:** 0= ausente; 1= presente.
- (16) **Constituição da corona corolina:** 0= projeção do tecido da corola, com tricomas nas laterais; 1= formado por tricomas em uma estrutura deltoide acima das anteras.
- (17) **Corona estaminal (apêndice infraestaminal):** 0=ausente; 1= presente, mas pouco desenvolvida; 2= presente e bem desenvolvida.
- (18) **Posição das anteras no tubo da corola:** 0= acima da cabeça do estilete, sem tocá-lo; 1= em contato com a cabeça do estilete, em uma pequena porção; 2= inteiramente apoiadas na cabeça do estilete.
- (19) **Estrutura de suporte das anteras:** 0= ausente; 1= filete; 2= “rib”.

- (20) **Fertilidade das anteras:** 0= totalmente fértil; 1= parcialmente fértil.
- (21) **Deiscência das anteras:** 0= introrsa, 1= sublatrorsa; 2= latrorsa.
- (22) **Forma do apêndice apical da antera:** 0= obtuso; 1= deltoide, 2= filiforme.
- (23) **Arranjo entre os apêndices apicais da antera:** 0= justapostos; 1= entrelaçados; 2= fusionados.
- (24) **Nectário:** 0= ausente; 1= presente.
- (25) **Localização do nectário:** 0= anel contornando do ovário; 1= tecido nectarífero na base do ovário.
- (26) **Fusão do anel nectarífero ao ovário:** 0= não fusionado; 1= parcialmente fusionado; 2= totalmente fusionado.
- (27) **Fusão dos carpelos:** 0= apocárpico; 1= hemissicárpico; 2= sincárpico.
- (28) **Posição do ovário:** 0= súpero; 1= semi-ínfero.
- (29) **Placentação:** 0= parietal; 1= marginal, 2 mista (axilar e marginal).
- (30) **Número de óvulos por carpelo:** 0= dois; 1= quatro; 2= muitos.
- (31) **Idioblastos secretores no ovário:** 0= ausente; 1= presente.
- (32) **Distribuição dos idioblastos secretores no ovário:** 0= hipoderme; 1= estocástica; porção mais apical do ovário= 2.
- (33) **Diferenciação da cabeça do estilete:** 0= indiferenciada; 1= levemente diferenciada; 2= diferenciada.
- (34) **Forma da cabeça do estilete:** 0= cilíndrica; 1= ovoide; 2= obovoide; 3= carretel; 4= cônica; 5= fusiforme.
- (35) **Apêndices apicais da cabeça do estilete:** 0= livres entre si; 1= fusionados na base.
- (36) **Tamanho dos apêndices apicais em relação ao tamanho total da cabeça do estilete:** 0= $1/6$ à $1/5$ do tamanho; 1= $1/4$ à $1/3$ do tamanho; 2= $1/2$ do tamanho; 3= $2/3$ ou mais do tamanho.
- (37) **Anel apical da cabeça do estilete:** 0=ausente; 1= presente, mas pouco desenvolvido; 2= presente e bem desenvolvido.
- (38) **Constituição do anel apical da cabeça do estilete:** 0= tricomas; 1= tricomas, com leve expansão de tecido parenquimático; 2= tricomas, com acentuada expansão parenquimática.
- (39) **Número de tricomas do anel apical da cabeça do estilete:** 0= até três tricomas; 1= quatro até dez; 2= onze até quinze tricomas; 3= de dezoito ou mais tricomas.
- (40) **Região secretora da cabeça do estilete:** 0= toda extensão da cabeça do estilete; 1= grande parte da região da cabeça do estilete; 2= em uma pequena porção da cabeça do estilete.
- (41) **Anel basal da cabeça do estilete:** 0= ausente; 1= presente.

- (42) **Constituição do anel basal da cabeça do estilete:** 0= epiderme justapostas, com leve expansão parenquimática; 1= epiderme justaposta, com forte expansão parenquimática.
- (43) **Número de células epidérmicas do anel basal da cabeça do estilete:** 0= de seis a oito; 1= de dez a 12; 2= 20 ou mais.
- (44) **Formato da região do estilete imediatamente abaixo da cabeça do estilete:** 0= cilíndrica; 1= obcônica.
- (45) **Idioblasto secretor na cabeça do estilete:** 0= ausente; 1= presente.

Apêndice 3: Matriz morfoanatômica gerada neste estudo, baseada em caracteres morfológicos e anatômicos florais. As variações observadas estão codificadas na forma de 45 caracteres (identificadas a cada cinco caracteres com numeração) e os seus estados de caráter codificados de 0 até 6, dependendo da estrutura floral analisada. Tanto os caracteres quanto seus estados de caráter estão disponíveis no Apêndice 2. Colunas indicam os caracteres e linhas os seus estados de caráter.

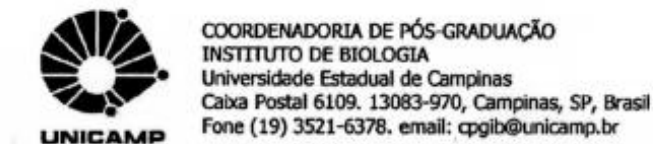
	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	
<i>Allamanda blanchetti</i>	0 0 - - -	0 -	- 1 0 -	- 2 2 1	1 1 1 1 1	1 1 0 1 0	0 2 0 0 2	0 -	2 3 0	1 2 0 3 1	1 1 2 1 0
<i>Allamanda cathartica</i>	0 0 - - -	0 -	- 1 0 -	- 2 2 1	1 1 1 1 1	1 1 0 1 0	0 2 0 0 2	0 -	2 3 0	1 2 0 3 1	1 1 2 1 0
<i>Allamanda laevis</i>	0 1 0 0 0	0 -	- 1 0 -	- 2 2 1	1 1 1 1 1	1 1 0 1 0	0 2 0 0 2	0 -	2 3 0	1 2 0 3 1	1 1 2 1 0
<i>Allamanda puberula</i>	0 1 0 2 4	0 -	- 1 0 -	- 2 2 1	1 1 1 1 1	1 1 0 1 0	0 2 0 0 2	0 -	2 3 0	1 2 0 3 1	1 1 2 1 0
<i>Allamanda schottii</i>	0 1 0 1 0,1,2,3	0 -	- 1 0 -	- 2 2 1	1 1 1 1 1	1 1 0 1 0	0 2 0 0 2	0 -	2 3 0	1 2 0 3 1	1 1 2 1 0
<i>Cameraria latifolia</i>	0 0 - - -	1 2	- 0 1 2	- 2 2 1	0 2 2 2 0	2 2 1 1 1	- 0 0 1 1	1 1	2 4 1	3 1 1 1 2	1 1 1 1 0
<i>Cerbera manghas</i>	0 0 - - -	1 1,2,3	1 0 1 0,1,3	1 2 2 1	0 2 2 2 0	2 1 0 0 -	- 0 0 1 1	1 1	2 4 1	3 1 0 1 2	1 1 0 1 0
<i>Cerbera odollam</i>	0 0 - - -	1 0,1,2,3	0 0 1 0,1,2,3	0 2 2 1	0 2 2 2 0	2 1 2 0 -	- 0 0 1 1	1 2	2 4 1	3 1 0 1 2	0 - - 1 0
<i>Cerberiopsis candelabra</i>	0 0 - - -	1 0,2,3	- 0 1 0,2	- 2 2 1	0 2 2 2 0	2 1 0 0 -	- 0 0 1 0	1 2	2 4 1	2 1 1 1 2	1 0 0 1 0
<i>Cerberiopsis neriifolia</i>	0 0 - - -	1 0,2,3	0 0 1 0,1,2,3	0 2 2 1	0 2 2 1 0	2 2 1 0 -	- 0 0 1 0	1 0,1	2 3 0	3 1 1 1 1	1 0 0 1 0
<i>Himatanthus bracteatus</i>	1 0 - - -	1 0,1,4	0 0 1 0,1,2	1 0 0 0	- 0 1 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	1 0,1	1 0 0	0 1 0 2 0	0 - - 0 1
<i>Himatanthus drasticus</i>	1 0 - - -	1 0,1,4	1 0 1 0,1,2	1 0 0 0	- 0 1 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	1 0,1	1 0 0	1 1 0 2 0	0 - - 0 1
<i>Himatanthus obvatus</i>	1 0 - - -	1 0,1,4	1 0 1 0,1,2	1 0 0 0	- 0 1 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	1 0,1	1 0 0	0 1 0 2 0	0 - - 0 1
<i>Mortoniella pittieri</i>	0 1 1 3 -	1 1,2,3	0 0 0 -	- 0 0 0	- 0 0 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	0 -	0 1 0	1 0 - -	0 0 - 0 0
<i>Plumeria alba</i>	0 1 1 4 -	1 1,2	0 0 0 -	- 1 1 0	- 0 1 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	0 -	1 2 0	0 1 0 2 0	0 - - 0 0
<i>Plumeria pudica</i>	0 1 1 4 -	1 2	- 0 0 -	- 1 1 0	- 0 1 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	0 -	1 2 0	0 1 0 2 0	0 - - 0 0
<i>Plumeria rubra</i>	0 1 1 4 -	1 2	- 0 0 -	- 1 1 0	- 0 1 1 0	0 0 0 0 -	- 1 1 2 2	0 -	1 2 0	0 1 0 2 0	0 - - 0 0
<i>Skytanthus acutus</i>	0 0 - - -	1 1,2	0 0 1 1	0 2 2 1	0 2 2 0 0	2 2 1 0 -	- 0 0 2 2	1 0	2 4 1	2 1 0 2 1	1 0 1 1 1
<i>Skytanthus hancorniiifolius</i>	0 0 - - -	1 1,4	1 0 1 1,2	0 2 1 1	0 2 2 0 0	2 2 1 0 -	- 0 0 2 2	1 0,1	2 5 1	2 1 1 1 2	1 0 0 1 1
<i>Thevetia ahouai</i>	0 1 0 0 0	0 -	- 0 0 -	- 2 2 1	0 2 2 2 0	2 1 0 1 0	2 1 0 2 0	0 -	2 4 1	3 2 2 0 2	1 1 1 1 0
<i>Thevetia bicornuta</i>	0 1 0 0 0	1 2	- 1 1 2	- 2 2 1	0 2 2 2 0	2 1 0 1 0	1 0 1 2 1	0,1	2 4 1	3 2 2 0 2	1 1 1 1 0
<i>Thevetia ovata</i>	0 1 0 0 0	1 -	- 1 1 2	- 2 2 1	0 2 2 2 0	2 1 2 1 0	1 1 0 2 0	1 0	2 4 1	3 2 2 0 2	1 1 1 1 0
<i>Thevetia peruviana</i>	0 1 0 0 0	0 2	- 1 0 -	- 2 2 1	0 2 2 2 0	2 2 1 1 0	1 1 0 2 0	0 -	2 4 1	3 2 2 0 2	1 1 1 1 0

Continuação...

<u>Acokanthera oppositifolia</u>	0 0 - - -	1 2	- 0 1 0,2	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 2 0 2 4 1 0,1,3	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Acokanthera spectabilis</u>	0 0 - - -	1 2	- 0 1 0,2	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 2 0 2 4 1 0,1,3	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Alyxia clusiophylla</u>	0 0 - - -	0 -	- 0 0 -	- ? ? 0 - 0 1 1 0 0 0 0 1 1 - 1 0 3 2 0 -	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 0
<u>Alstonia scholaris</u>	0 0 - - -	0 -	- 0 0 -	- 1 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 1 0 3 3 1 1	2 0 0 2 1 0 1 1 1 0 0 0 0
<u>Alstonia spectabilis</u>	0 0 - - -	? ?	? 0 0 -	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 1 0 3 3 1 1	1 5 0 0 0 - - 1 1 0 0 0 1
<u>Alstonia vielardii</u>	0 1 0 2 0	0 -	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 1 0 3 3 1 1	1 5 0 0 0 - - 1 1 0 0 0 1
<u>Ancylobothrys scandens</u>	0 0 - - -	1 0,4	- 0 1 0,2	1 ? 1 0 - 0 1 1 0 0 0 0 0 - - 2 0 2 4 1 0,3	0 5 0 1 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Carissa carandas</u>	0 0 - - -	1 2	- 0 1 0,2	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 2 0 2 4 1 0,1,3	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Catharanthus roseus</u>	0 0 - - -	? ?	? 0 0 -	- 1 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 1 2 0 0 0 1 3 0 -	2 0 0 0 2 0 1 1 1 0 1 0 0
<u>Craspidospermum verticilatum</u>	0 0 - - -	1 0,4	- 0 1 0,4	- ? 1 0 - 0 1 1 0 1 0 0 ? ? ? 2 0 2 4 1 0,2,3	1 5 0 2 0 - - 0 1 4 0 0 1
<u>Geissospermum laevis</u>	0 0 - - -	1 3	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 0 - - 0 0 1 3 0 -	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 0
<u>Haplophyton crooksi</u>	0 0 - - -	1 2,3	- 0 1 2,3	- ? 1 0 - 0 1 1 0 1 0 0 0 - - 0 0 1 1 1 ?	1 5 0 0 0 - - 0 1 0 0 0 0
<u>Kopsia fruticosa</u>	0 0 ? ? 0	1 2	? 0 1 0,1	0 1 2 0 - 0 0 1 0 0 0 0 1 2 0 0 0 1 0 0 -	2 4 0 0 0 - - 1 1 0 0 0 1
<u>Lacmellea lactescens</u>	0 1 0 3 0	1 0,2	- 0 1 0,1,2	1 ? ? 0 - 0 ? ? 0 0 0 0 0 - - 2 0 2 4 1 0,1	? ? ? ? ? - - ? ? ? ? 0 1
<u>Landolphia incerta</u>	0 0 - - -	1 0,4	- 0 1 0,4	- ? 1 ? ? 0 1 1 0 1 0 0 0 0 - 2 0 0 4 1 0,1,2	0 5 0 ? 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Landolphia kirkii</u>	0 0 - - -	1 0,2	- 0 1 2	- ? ? 0 - 0 2 1 0 0 0 0 0 - - 2 0 0 4 1 0,2	0 5 0 3 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Landolphia owariensis</u>	0 1 1 6 0	1 0,4	- 0 1 0,1	1 1 1 0 - 0 2 1 0 1 0 0 0 - - 2 0 0 4 1 0,1,2	0 5 0 3 0 - - 0 0 - - 0 1
<u>Melodinus australis</u>	0 0 - - -	1 0,4	- 0 1 2	- 1 1 0 - ? 1 1 0 0 0 0 ? ? ? 2 0 2 4 1 0,3	1 4 0 2 0 - - 1 1 0 0 0 1
<u>Melodinus balansae</u>	0 0 - - -	1 0,4	- 0 1 2	- 1 1 0 - 0 1 1 0 0 0 0 1 1 - 2 0 0 4 1 1	1 5 0 1 0 - - 1 1 0 0 0 1
<u>Ochrosia nakaiana</u>	0 1 ? ? 0	? ?	- 0 0 -	- 1 1 0 - 0 1 1 0 0 0 0 1 1 2 0 0 1 2 0 -	1 5 0 0 0 - - 1 1 3 2 0 1
<u>Ochrosia coccinea</u>	0 1 0 3 0	0 -	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 1 1 0 1 0 0 0 - - 0 0 1 2 0 -	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 0
<u>Ochrosia elliptica</u>	0 1 0 3 0	0 -	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 1 1 0 1 0 0 0 - - 0 0 1 2 0 -	0 5 0 0 0 - - 0 0 - - 0 0
<u>Petchia ceylanica</u>	0 0 - - -	0 -	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 0 1 0 0 0 0 1 1 - 1 0 3 3 0 -	1 0 0 0 0 - - 1 1 0 0 0 0
<u>Petchia polysperma</u>	0 0 - - -	0 -	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 1 1 0 1 0 0 1 1 - 1 0 3 4 0 -	2 3 0 1 1 1 0 1 1 1 0 0 0
<u>Tabernaemontana divaricata</u>	0 1 0 0 4	0 -	- 0 0 -	- ? 1 0 - 0 1 1 1 1 1 0 0 - - 1 0 3 3 0 -	0 0 0 1 0 - - 0 0 - - 0 0
<u>Tabernaemontana elegans</u>	0 1 0 1 0	0 -	- 0 0 -	- 1 1 0 - 2 2 1 1 1 1 0 1 1 - 1 0 1 4 0 -	1 2 0 3 0 - - 1 1 0 0 0 0
<u>Tonduzia longifolia</u>	0 0 - - -	0 -	- 0 0 -	- 1 1 0 - 0 1 1 0 1 0 0 1 0 1 1 0 3 4 1 1	2 ? 0 3 0 - - 1 1 0 0 0 1

ANEXOS

ANEXO 1. Declaração referente a bioética e/ou biossegurança



DECLARAÇÃO

Em observância ao §5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Tese de Doutorado, intitulada "*Estudos filogenéticos e morfoanatômicos da tribo Plumerieae (Rauvolfioideae, Apocynaceae)*", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: _____

Nome do(a) aluno(a): Emília Rosiane Kotovski Tozo Bisinoto

Assinatura: _____

Nome do(a) orientador(a): André Olmos Simões

Data: 08/11/2018

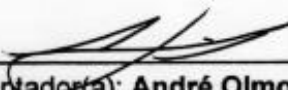
ANEXO 2. Declaração referente a direitos autorais

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Estudos filogenéticos e morfoanatômicos da tribo Plumerieae (Rauvolfioideae, Apocynaceae)**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 08/11/2018

Assinatura : 
Nome do(a) autor(a): **Emília Roslane Kotovski Tozo Bisinoto**
RG n.º 62961653-x

Assinatura : 
Nome do(a) orientador(a): **André Olmos Simões**
RG n.º 26363982-4